

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**



**Université A. Mira de Bejaia**  
**Faculté de Technologie**  
**Département de Génie des Procédés**

**MÉMOIRE**

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER**

**Filière :** Génie des procédés  
**Spécialité :** Science et Technologie du Médicament.

**Thème**

**Formulation de nanoparticules du complexe  
(TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC) et étude de leur action  
antibactérienne sur *l'Escherichia coli***

**Réalisé par :**

**M<sup>elle</sup> :** DJEMAOUI Rebiha

**M<sup>elle</sup> :** BOURBABA Soraya

**Promoteurs :**

**M<sup>me</sup> :** H. BELKACEMI

**Co-promoteur :**

**M<sup>r</sup> :** A. TOUATI

**Présidente du jury :** M<sup>me</sup> Z. BOUARICHE

**Examineurs :** M<sup>R</sup> D. BELHADI

**Année Universitaire : 2014-2015**

# Remerciements

*A*u terme de ce travail, nous tenons à remercier vivement notre promotrice madame, H. BELKACEMI pour avoir accepté de nous encadrer et pour ses conseils et commentaires si précieux. Qu'elle trouve ici l'expression de notre profond respect pour toutes ces qualités scientifiques et humaines.

*N*ous voudrions exprimer notre profonde reconnaissance et gratitude à M<sup>r</sup> A.TOUATI, pour sa spontanéité, pour la qualité de sa collaboration et de ses encouragements pour le bon déroulement de ce travail, de nous avoir aidé et guidé pour mener à bien la partie Microbiologique..

*N*ous souhaitons aussi remercier les membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'être présents et de s'être penché sur notre travail  
Nos vifs remerciements vont aussi à madame BRADAI, et les techniciens des laboratoires du bloc 11 ainsi que M<sup>er</sup> D.MANKOU pour son aide

*E*nfin nous tenons à remercier très sincèrement et chaleureusement l'ensemble du personnel de l'université Abderrahmane Mira du près ou de loin, a tout les enseignants particulièrement ceux de master II et toutes personnes ayant contribué de près ou de loin au bon déroulement de notre travail.





*Avec un cœur plein d'amour et de fierté je dédie ce travail :*

*A ceux qui m'ont toujours entouré d'amour, qui m'ont encouragé  
durant toute ma vie ; mes très chère parents Rachid et Fatiha*

*A mes chers frères « Ferhat et Amirouche, Yacine et sa petite famille » ;*

*A ma chère sœur « Samia » qui me conseille toujours vers le bien*

*A Yanis, Iliane, Islam, Lotfi et Tinhinane et sa famille*

*A ma très précieuse grande mère Zehira*

*A mes amies « Yamina, Noria, Sonia, Souade, Kahina, Ilham et les petits,*

*Naima et Feriel et leurs familles*

*et surtout mes très chères amour Salima et Zouhra qui m'ont beaucoup aider »*

*A mes cousins et cousines et à ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à la  
réalisation de ce travail*



**Soraya**

*Avec un cœur plein d'amour et de fierté je dédie ce travail :*

*A ceux qui m'ont toujours entouré d'amour, qui m'ont encouragé  
durant toute ma vie ; mes très chers parents.*

*A mon cher mari Mounir ainsi que sa famille*

*A mes chers frères «Lyes, Sofiane, Mehrez» ;*

*A mes chères sœurs « Lila, Wahiba et leurs petites familles,  
Oumelaz »*

*A Bilal, Walid et Adel*

*A mes amies « ma très chère Ania et Zouhra» ;*

*A ma très chère binôme Soraya*

*A ceux qui m'ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce  
travail*

**Rebiha**



# Sommaire

---

**Abréviation**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction générale .....1**

**Chapitre 01 : synthèse bibliographique ..... 3**

I-1. Médicaments antibactériens .....3

    I-1-1. Les bactéries .....3

        I-1-2. *Escherichia coli*..... 4

            I-1-2-1. Définition .....4

            I-1-2-2. Taxonomie.....5

            I-1-2-3. caractères bactériologiques.....5

I-2. Infection bactérienne .....6

    I-2-1. Définition.....6

    I-2-2. Historique d’antibiotique.....6

I-3. Les médicaments antibactériens .....7

    I-3-1. Définition.....7

    I-3-2. Classification des médicaments antibactériens selon leurs propriétés.....8

    I-3-3. Mode d’action d’un médicament antibactérien.....8

    I-3-4. Effet antibactérien.....10

I-4. Médicaments antifongiques .....11

    I-4-1. Introduction.....11

    I-4-2. Définition des fongiques.....11

    I-4-3. Propriétés principales.....12

    I-4-4. Principaux groupes de champignons.....13

    I-4-5. Les infections fongiques .....13

        I-4-5-1. Définition.....13

        I-4-5-2. Historique d’antifongique.....14

I-5. Les nanoparticules .....15

---

I-5-1. Définition.....	15
I-5-2. Classification de principales nanoparticules.....	15
I-5-3. Différents procédés d'élaboration des nanoparticules.....	17
I-5-4. Les procédés de simple et double émulsion/évaporation de solvants.....	18
I-6. Définition des clusters .....	19
I-6-1. Les organosilanes et leur réactivité.....	20
I-6-1-1. Orthosilicate de tétraéthyle (TEOS).....	21
I-6-1-2. Greffage d'organosilanes sur les surfaces de silice.....	23
I-6-2. Application des complexes de nanoparticules de clusters aux médicaments antibactériens et antifongiques .....	23
I-6-2-1. Historique sur les médicaments à base d'argent .....	23
I-6-2-2. Application des complexes de nanoparticules de clusters aux médicaments antibactériens et antifongiques.....	25
I-6-2-3. Action de nanoparticules de clusters sur les infection.....	26
I-7. Les agents de préparation des nanoparticules .....	27
I-7-1. L'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC).....	27
I-7-2. Avantages de l'HPMC.....	28
I-8. Les procédés Sol-gel .....	29
I-8-1. Historique et définition.....	29
I-8-2. Technique.....	29
I-9. Les méthodes de caractérisation et d'analyses qualitative et quantitative .....	30
I-9-1. La méthode volumétrique.....	30
I-9-2. Spectrophotométrie d'absorption UV-Visible.....	31
I-9-3. Spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA).....	31
I-9-4. Diffraction de rayon X (DRX).....	32
I-9-5. Spectrophotométrie infrarouge (IR).....	32

---

<b>Chapitre 02 : mise en oeuvre expérimentale .....</b>	<b>34</b>
II-1. Préparation du complexe antibactérien (TEOS-Ag <sup>+</sup> -HPMC).....	34
II-1-1. Préparation du sol gel par hydrolyse acide du TEOS.....	34
II-1-1-1. Matériels et réactifs.....	35
II-1-1-2. Protocole expérimental.....	36
II-1-2. Formulation des nanoparticules de complexes de (TEOS- Ag <sup>+</sup> - HPMC).....	37
II-1-2-1. Matériels et réactifs.....	37
II-1-2-2. Protocole expérimental.....	38
II-1-2-2-1. Détermination de la masse de sol-gel à partir d'un volume précis.....	38
II-1-2-2-2. Calculs préliminaires pour la préparation du complexe TEOS-Ag <sup>+</sup> (NPs complexes).....	39
II-1-2-2-3. Complexe TEOS - Ag <sup>+</sup> _ HPMC (Nps ).....	41
II-2. La séparation par centrifugation des complexes nanoparticules (TEOS-Ag <sup>+</sup> -HPMC).....	42
II-2-1. Matériels et solution.....	42
II-2-2. Protocole expérimentale de la séparation et de prélèvement des échantillons.....	43
II-3. Caractérisation structurale des nanoparticules du complexe antibactérien (TEOS-Ag <sup>+</sup> -HPMC) .....	44
II-3-1. Spectroscopie à diffraction par rayon X (DRX).....	44
II-3-2. Spectroscopie Infrarouge (FTIR) .....	45
II-4. Analyse qualitative et quantitative de Ag <sup>+</sup> , par spectrophotométrie UV-Visible.....	45
II-4-2. Analyse .....	46
II-4-2-1. Aspect qualitatif.....	46
II-4-2-2 Aspect quantitatif et courbe d'étalonnage.....	47
II-4-2-3. Exemple de calcul du taux de complexation pour les différentes formulations par UV.....	49
II-5. Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	49
II-5-1. Matériel et méthode.....	50
II-5-2. Test anti-bactérien.....	50
II-5-2-1. Préparation de la suspension bactérienne.....	50
II-5-2-2. Antibiogramme.....	52

<b>Chapitre 03 : résultats et discussions.....</b>	<b>54</b>
III-1. Caractérisation structurale .....	54
III-1-1. Par Diffraction de rayon X (DRX).....	54
III-1-2. Caractérisation par IR.....	56
III-1-3. Caractérisation par l'UV-visible.....	58
III-2. Détermination des taux de complexation de Ag dans les différentes formulations par UV.....	59
III-3. Détermination de la masse des complexes et des teneurs en Ag des Nanoparticules (Nps).....	61
III-4. Mise en évidence de l'activité antibactérienne.....	64
➤ <b>Discussion</b> .....	71
➤ <b>Conclusion</b> .....	72
<b>Conclusion générale</b> .....	<b>73</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	

---

## Abréviations

---

**Abs** : absorbance

**ADN** : Acide désoxyribonucléique

**Ag** : argent

**AgNO<sub>3</sub>** : nitrate d'argent

**ARN** : Acide ribosome nucléique

**CMB** : concentration minimale bactéricide

**CMI** : concentration minimale inhibitrice

**Conc** : concentration

**Comp** : complexation

**DRX** : diffraction des rayons X

**E Coli** : Escherichia coli

**ETOH** : Ethanol

**F** : facteur de dilution

**HCL** : Acide chlorhydrique

**HNO<sub>3</sub>** : Acide nitrique

**HPMC** : Hydroxypropylmethylcellulose

**H<sub>2</sub>O** : Eau

**IR** : Infrarouge

**KBr** : bromure de potassium

**M.H** : Muller-Hinton

**MoF** : Metal-organic Framework

**NH<sub>4</sub>SCN**: Thiocyanate

**Nps** : nanoparticules

**NpAg** : nanoparticules d'argent

---

**PA** : principe actif

**SAA** : spectrophotométrie d'absorption atomique

**SFA** : sulfate ferrique d'ammonium

**Si** : silice

**TEOS** : tetraethylorthosilicate

**UV-Visible** : Ultra-violet Visible

---

## Liste des figures

---

<b>Figure I-1.</b> Bactéries intestinales par microscopie avec grossissement.....	<b>4</b>
<b>Figure I-2.</b> photo de colonie sur le milieu de culture.....	<b>6</b>
<b>Figure I-3.</b> Mode d'action d'un médicament antibactérien.....	<b>9</b>
<b>Figure I-4.</b> Interaction médicament-bactéries.....	<b>9</b>
<b>Figure I-5.</b> Schéma d'un fongique et sa composition biochimique.....	<b>14</b>
<b>Figure I-6.</b> Principale nanoparticules (organique, inorganique NPs).....	<b>17</b>
<b>Figure I-7.</b> Formes, tailles et structures microscopiques des nanoparticules.....	<b>18</b>
<b>Figure I-8.</b> Obtention de nanoparticules par émulsion simple/évaporation de solvant...	<b>19</b>
<b>Figure I-9.</b> Schéma de réactions chimiques mis en jeu.....	<b>21</b>
<b>Figure I-10 :</b> Formule chimique du tetraethylorthosilicate (TEOS).....	<b>21</b>
<b>Figure I-11.</b> Structure d'action de nanoparticule de clusters sur l'infection.....	<b>27</b>
<b>Figure I-12.</b> Structure typique du dérivé cellulosique Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC).....	<b>28</b>
<b>Figure I-13.</b> Schéma montrant les deux étapes et la maturation d'un Sol gel.....	<b>30</b>
<b>Figure II.1</b> Représentation schématique d'un processus sol-gel à partir d'un alcoxysilane.....	<b>35</b>
<b>Figure II.2 :</b> Dispositif expérimental utilisé pour la préparation du sol-gel.....	<b>36</b>
<b>Figure II.3 :</b> Structure de complexe TEOS-Ag <sup>+</sup> (NPs de clusters).....	<b>40</b>
<b>Figure II-4.</b> Procédure du séchage après séparation.....	<b>44</b>
<b>Figure II-6.</b> Spectre UV de l'étalon le plus concentré de Ag (5mg/l).....	<b>46</b>
<b>Figure II-7.</b> La courbe d'étalonnage par UV-visible d'Ag.....	<b>47</b>
<b>Figure II-8.</b> Dosage de l'Ag dans la formulation à différentes composition.....	<b>48</b>
<b>Figure II-9.</b> Préparation de suspension bactérienne.....	<b>51</b>
<b>Figure II-10 :</b> Ensemencement des souches.....	<b>51</b>

<b>Figure II-11.</b> : Antibiogramme montrant les disques antibiotiques de référence disposés sur les différents points de dépôts des différentes formulations.....	<b>52</b>
<b>Figure II-12</b> : Dépôt des suspensions antibactériennes.....	<b>53</b>
<b>Figure III-1.</b> Diffractogrammes X superposés de tous les échantillons de la formulation (TEOS-Ag-HPMC) à 0,5% Ag et 5% de HPMC, et des références.....	<b>54</b>
<b>Figure III-2.</b> Spectres IR regroupés des formulations des complexes avec 2,5% de HPMC et des réactifs de départ.....	<b>56</b>
<b>Figure III-3.</b> Spectres IR regroupés des formulations des complexes avec 5% de HPMC et des réactifs de départ.....	<b>57</b>
<b>Figure III.4</b> : Spectres UV des surnageants des différentes formulations à 5% de HPMC des complexes TEOS-Ag <sup>+</sup> -HPMC, en fonction du taux initial de Ag.....	<b>58</b>
<b>Figure III-5.</b> Spectres UV des surnageants des formulations à 2.5% d'HPMC, des complexes de (TEOS-Ag <sup>+</sup> -HPMC),en fonction des taux initial de Ag.....	<b>59</b>
<b>Figure III-6.</b> Courbes de variation du taux de complexation de Ag dans les Nps, en fonction du pourcentage initial de Ag dans les formulations par UV.....	<b>60</b>
<b>Figure III-7.</b> Variation de la masse des résidus des Nps en fonction du pourcentage initial de Ag.....	<b>62</b>
<b>Figure III-8.</b> Variation de la teneur de Ag dans les Nps en fonction du pourcentage initial d'Argent.....	<b>62</b>
<b>Figure III.9</b> : Histogrammes de corrélation entre les teneurs et les taux de complexation de Ag des Nps en fonction du pourcentage initial de Ag.....	<b>63</b>
<b>Figure III-10</b> Activité antibactérienne sur les bactéries E. Coli du complexe (TEOS-Ag <sup>+</sup> -HPMC) des formulations avec 5 % HPMC sur une boîte pétrie en plastique stérile à 25µL pour II tests .....	<b>65</b>
<b>Figure III-11.</b> Photo montrant les zones d'inhibition à 25 µL de la formulation avec 2.5% HPMC sur gélose dans des boites de pétrie en plastique.....	<b>67</b>

- Figure III-12.** Moyennes des diamètres des zones d'inhibition d'E. Coli des 2 essais avec 25 $\mu$ L de formulation, sur gélose dans des boites à pétrie en plastique.....**68**
- Figure III-13.** Photos montrant les zones d'inhibition à 25  $\mu$ L et 10  $\mu$ L de la formulation avec 5% HPMC sur gélose dans des boites de pétrie en verre.....**69**
- Figure III-14.** Zones d'inhibition de la formulation à 2.5 % HPMC avec : I) 10 $\mu$ l ; II) 25 $\mu$ L de la formulation, déposés sur gélose dans une boite de pétrie en verre.....**70**
- Figure III-15.** Les diamètres des zones d'inhibition d'E. Coli, par les suspensions de Nps de complexes (TEOS-Ag<sup>+</sup> -HPMC), en fonction des pourcentages en masse de Ag dans des boites de pétrie en verre.....**71**

## Liste des tableaux

---

**Tableau I.1** : propriétés des fongiques.....12

**Tableau I-2** : Propriétés physiques de la molécule de TEOS.....22

**Tableau II-1.** Volumes et masses de sol gel de TEOS hydrolysé.....38

**Tableau II-2.** Pourcentages d'Ag et masses d'AgNO<sub>3</sub>.....40

**Tableau II-3.** Différentes formulations des nanoparticules des complexes de (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC).....42

**Tableau II-4.** Les différentes concentrations des étalons de Ag<sup>+</sup> par UV-Visible.....47

**Tableau III-1.** Bandes d'absorption IR et liaisons chimiques.....57

**Tableau III-2.**Taux de complexation de Ag dans les Nps des différentes formulations par UV.....60

**Tableau III-3.**Les masses des résidus et des teneurs de Ag des Nps après séchage.....61

**Tableau III-5.**Zones d'inhibition de la croissance d'*E. Coli*, en présence du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC, pour 5 % HPMC dans des boites de Pétri en plastique stérile répété deux fois.....64

**Tableau III-6.** : Zones d'inhibition de la croissance d'*E. Coli*, en présence du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup> -HPMC, pour 2.5 % HPMC et 25 µL dans des boites de pétrie en plastique stérile testé deux fois.....66

**Tableau III-7.** Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de la bactérie *E. Coli*, en présence du complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup> -HPMC), pour 5 % HPMC avec 10 et 25µl de formulation, sur gélose dans des boites de pétrie en verre.....68

**Tableau III-8.** Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de la bactérie *E. Coli*, en présence du complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC), pour 2.5 % en masse d'HPMC sur une boite de Pétri en verre.....69

---

# **Introduction générale**

---

## Introduction générale

La résistance bactérienne aux agents antibactériens apparait de nos jours comme une des préoccupations majeures de la santé, vu que l'homme vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes présents dans l'air, dans le sol, dans les eaux douces, dans les eaux marines, à la surface de la peau et les muqueuses, ainsi qu'au niveau du tube digestif, de l'arbre respiratoire et de l'appareil urinaire. Ces microorganismes sont constitués par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Ils sont soit des hôtes naturels de l'homme et donc saprophytes (flore digestive par exemple), soit ils déterminent une infection et donc pathogènes [1].

L'émergence et la dissémination de souches bactériennes résistantes résultent de l'usage anarchique et abusif des antibiotiques conventionnels, combiné aux nombreuses mutations génétiques qui surviennent dans le monde bactérien.

L'étendue de cette résistance est renforcée par le retard enregistré dans le développement et l'élaboration de nouveaux agents anti-infectieux.

Afin d'éradiquer cette résistance sans cesse croissante, il devient impératif et urgent de développer de nouvelles classes de médicament anti-infectieux. A cet égard, le développement d'antibiotiques, d'antifongiques et de prévention de ces infections, les sociétés pharmaceutiques travaillent dessus, et on peut espérer que dans un avenir proche de moins en moins de personnes décéderont des suites de maladies infectieuses.

Les travaux menés aux cours de notre étude s'articulent autour d'un complexe antibactérien à base d'argent testé sur des cellules *Escherichia coli*.

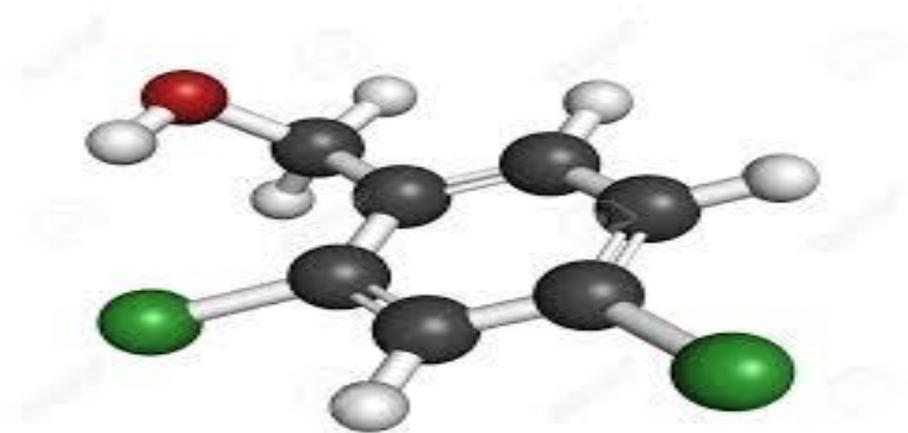
En premier lieu, il sera question d'une étude bibliographique sur le nitrate d'argent, sur ses propriétés physico-chimiques, et sur son mécanisme d'action.

En second lieu, nous passerons en revue la préparation d'un sol-gel par hydrolyse acide de tétraéthyl-orthosilicate, afin de nanostructurer la silice de l'organosilane, qui fixe à sa périphérie des cations  $Ag^+$  par des liaisons de complexation, en créant une liaison Si-Ag de type « cluster ». Ce complexe peut être encapsulé par un polymère, hydroxypropylméthylcellulose. La suspension de nanoparticules de complexe d'argent est testée sur des cellules *Escherichia coli* pour mettre en évidence son effet antibactérien.

En dernier lieu, nous résumerons les résultats obtenus lors de nos manipulations et nous discuterons et interpréterons ces derniers.

Le mémoire est composé de trois (03) chapitres, le premier englobe toute la synthèse bibliographique sur le thème, le deuxième chapitre regroupe les protocoles expérimentaux et les techniques d'analyse et de test utilisées dans ce travail. Dans le dernier chapitre, nous donnerons l'essentiel de nos résultats et leur discussion.

Nous terminerons notre étude par une conclusion et des références bibliographiques.



## **Synthèse bibliographique**

---

## I. Chapitre 01 : synthèse bibliographique

### I.1. Médicaments antibactériens

#### I-1. Introduction

L'organisme est souvent capable d'éliminer les bactéries par intermédiaire d'une réaction du système immunitaire, sans que les symptômes de maladies se manifestent. Lorsque les bactéries se multiplient plus vite que les défenses de l'organisme ne peuvent les détruire, se déclenche une maladie infectieuse accompagnée de signe inflammatoire.

Pour les traitements de ces infections, il faut des substances qui affectent les bactéries et empêchent donc leur multiplication ultérieure, mais qui cependant ne touche pas les cellules de l'organisme. [2]

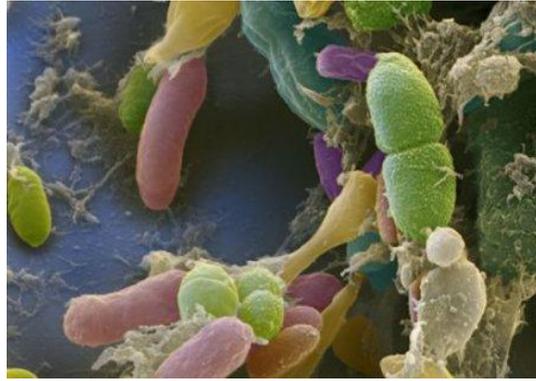
Ce faisant, on élargit d'un côté et on restreint de l'autre le sens de « antibiotique », qui signifie étymologiquement « anti-vie », et qui a été utilisé au départ pour les seules substances produites par des micro-organismes. [3]

#### I-1-1. Qu'est-ce qu'une Bactérie ?

Une bactérie est un être unicellulaire (**procaryote**) de petite taille, de morphologie variable qui présente des caractéristiques propres. La taille d'une bactérie varie entre 1 à 10  $\mu\text{m}$ . Le poids d'une bactérie est d'environ  $10^{-12}$  g. Elle contient 70% d'eau. Rapporté au poids sec, une bactérie est constituée de protéines (55%), de lipides (10%), de lipopolysaccharides (3%), de peptidoglycane (3%), de ribosomes (40%), d'ARN (20%) et d'ADN (3%). [4, 5]

Environ 100 000 milliards de bactéries sont dénombrées dans le tube digestif de l'homme, soit 10 fois plus que de cellules humaines. À la suite des projets de description du génome humain, des recherches intensives s'attachent à déterminer le rôle des bactéries résidentes dans la santé et la maladie de l'homme, c'est-à-dire à caractériser le « deuxième génome humain ».

Le microbiote intestinal (**Figure I.1**) est une communauté écologique complexe de par ses activités collectives, et les interactions avec l'homme. Au sein de cette niche, l'équilibre est assuré par des boucles de régulation ; mais des facteurs externes ou même certaines bactéries résidentes peuvent jouer un rôle déstabilisant et favorisant la pathologie aiguë ou chronique.



**Figure I-1.** Bactérie intestinale par microscopie avec un grossissement [7]

Les premières semaines de vie sont cruciales dans l'implantation du microbiote intestinal et également dans le développement de ces interactions. La prématurité conduit à une dysbiose initiale et à une dynamique d'implantation du microbiote différente de celle des nouveau-nés à terme.

La dysbiose du microbiote intestinal du nouveau-né prématuré peut conduire à des maladies infectieuses précoces. Son impact tout au long de la vie reste à évaluer. [6]

### **I-1-2. *Escherichia coli***

#### **I-1-2-1. Définition**

*Escherichia coli*, est un type de coliforme fécal, les bactéries qui sont trouvées dans les intestins d'humains et d'animaux.

La plupart d'*E. coli* est inoffensif et sert de fonction utile dans le corps en arrêtant la croissance d'espèce de bactéries nuisible et en faisant des vitamines nécessaires. Cependant, quelques espèce peuvent être des pathogènes opportuniste, tandis que d'autres peuvent causer la maladie gastro-intestinale dans un corps sains après injection.

Un opportuniste pathogène est un organisme qui vit normalement à l'intérieur d'un hôte sans causer de lésions, mais peut causer l'infection dans les gens avec des systèmes immunitaires affaiblis. *E. coli* est présent dans le gros intestin, donc il sera aussi dans la matière fécale des gens et des animaux. Si la contamination récente de sources d'eau avec des vidanges ou des déchets animaux est arrivée, *E. coli* sera présente. [8]

*E. Coli* a été identifié en 1885 par Theodor Esherich, et est un membre d'une grande famille de bactéries qui vivent dans l'intestin. Peu de temps après que l'on l'a découvert, c'est devenu un organisme de laboratoire populaire parce que cela pourrait être cultivé rapidement

sur des milieux différents. *E. coli* peut grandir en présence ou en absence d'oxygène et est capable d'utiliser des sources différentes de ses besoins alimentaires. [8, 9]

Sept critères définissent classiquement cette bactérie : un Gram négatif, une culture facile, l'absence d'oxydase, la capacité de réduire les nitrates, une aéro-anaérobie facultative, la capacité à fermenter le glucose et leur immobilité ou leur mobilité grâce à la possession d'une ciliature péritriche.

### **I-1-2-2. Taxonomie**

#### **E. coli appartient :**

- Règne : Procaryote
- Phylum : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Enterobacteriales
- Famille : Enterobacteriaceae
- Genre : *Escherichia*
- Espèce : ***Escherichia coli***

### **I-1-2-3. Caractères bactériologiques**

#### **A- Caractères morphologiques**

Ce sont des bacilles Gram négatif de 2 à 3  $\mu\text{m}$  de long et 0,5  $\mu\text{m}$  de large.

#### **B- Caractères culturels**

Les *E. coli* poussent très bien sur des milieux ordinaires à base de viande. Elles sont le plus fréquemment sous forme de colonies rondes, lisses (ou smooth « S »), à bords réguliers, ont un diamètre de 2 à 3 mm, après 18 h d'incubation à 37°C. [10]

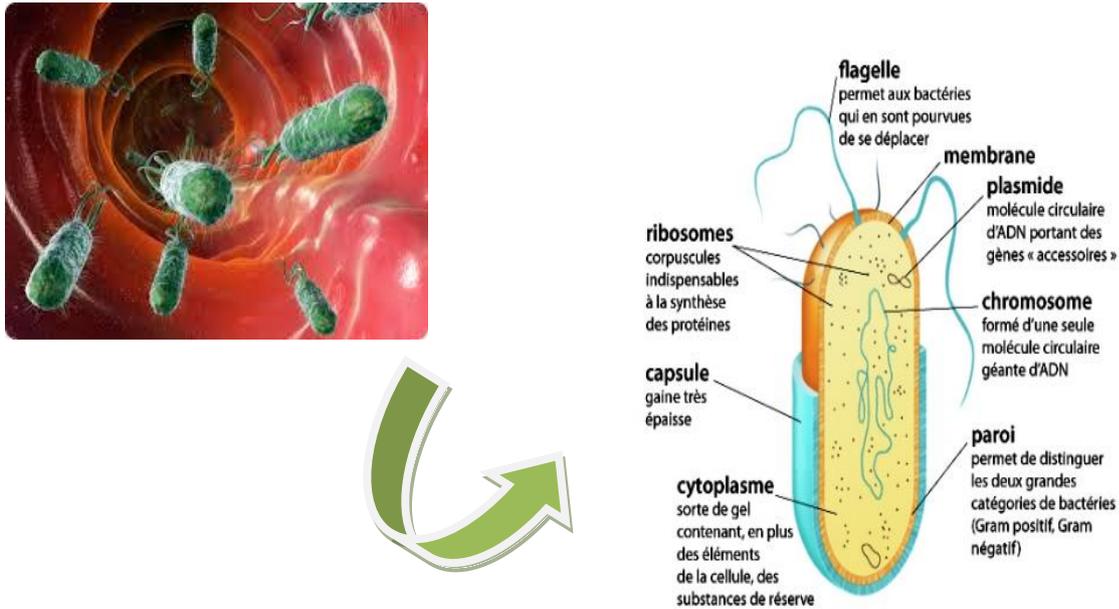


Figure I.2 : photo de colonies sur milieu de culture [10]

## I-2. Infections bactériennes

### I-2-1. Définition

Les infections bactériennes sont extrêmement courantes et sont à l'origine d'une morbidité et d'une mortalité substantielle. [11]

C'est la conséquence du développement, dans un organisme sain, de microorganismes pathogènes: bactérie, parasite, virus ou autres. Elle résulte de la rupture d'équilibre qui existe entre le germe et l'homme (hôte). Ce déséquilibre provient donc soit d'une diminution des défenses du sujet (congénitale ou acquise), soit d'un accroissement de virulence de germes, [12, 13]

### I-2-2. Historique d'antibiotique

Découverte de l'antibiose = antagonisme bactérien avec la bactérie charbonneuse. Le terme d'antibiotique a été proposé par Vuillemin (1889): "principe actif d'un organisme vivant qui détruit la vie des autres pour protéger sa propre vie". **Erlich P.** suggéra l'intérêt possible des colorants de teinturerie dès 1885. Diverses colorations découvertes chez les bactéries. Prix Nobel de Médecine 1908. Premier traitement contre la syphilis. Le colorant prontosil ou rubiazol®, premier futur sulfamide, fut découvert par **G. Domagk** en 1932-1935. [14]

Découverte de la pénicilline par **A. Fleming** en 1928: Transformation vitreuse de colonies de staphylocoques, qui a permis son emploi dans la purification à usage clinique de la pénicilline G dès 1938.

Le terme d'**antibiotique** a été proposé par **R. Dubos** (1940). Cette grande étape du progrès médical entraînant la découverte ultérieure de centaines de molécules a engendré l'émergence rapide de souches multi résistantes, d'où un usage des antibiotiques qui devra être de plus en plus raisonné. [15, 16]

### **I-3. Les médicaments antibactériens**

#### **I-3-1. Définition**

Originellement, les antibiotiques sont des agents antibactériens naturels d'origine biologique élaborés par des micro-organismes, des champignons et diverses bactéries.

Actuellement, la plupart des antibiotiques sont des dérivés semi-synthétiques, préparés par modifications chimiques de produits de base naturels. Chaque antibiotique peut se définir par son spectre d'activité, c'est-à-dire les espèces contre lesquelles il est susceptible d'être actif in-vivo. [17]

Ainsi, il est usuel de séparer les antibiotiques à spectre large, agissant sur les bactéries à gram positif et négatif (céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération par exemple), de ceux ayant un spectre étroit (limité aux bactéries à gram négatif, aztréonam, ou à gram positif, glycopeptides), voir un spectre très étroit (acide fusidique, antituberculeux en dehors de la rifampicine). Le spectre d'activité des antibiotiques dépend de la résistance naturelle des souches sauvages. Diverses modifications génétiques peuvent entraîner des résistances acquises qui ne permettent pas toujours prédire la sensibilité d'un germe donné vis-à-vis de l'antibiotique. [6, 18]

Par définition, on considère un médicament antibactérien comme antibiotique, tous dérivés produits par le métabolisme d'un micro-organisme qui possède une activité antibactérienne à faible concentration et qui n'est pas toxique pour l'hôte [12]. L'objectif est de guérir le malade infecté, sans rechutes ultérieures.

### I-3-2. Classification des médicaments antibactériens selon leurs propriétés (antibiotiques).

La classification des antibiotiques peut se faire selon plusieurs critères :

❖ **Selon origine :**

Élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique).

❖ **Mode d'action :**

Paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques

❖ **Spectre d'activité :**

Liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large)

❖ **Nature chimique :**

Très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle  $\beta$  lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles ( $\beta$  lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.). [19]

Nous adopterons la classification selon le mode d'action.

### I-3-3. Mode d'action d'un médicament antibactérien

Les médicaments antibactériens agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie.

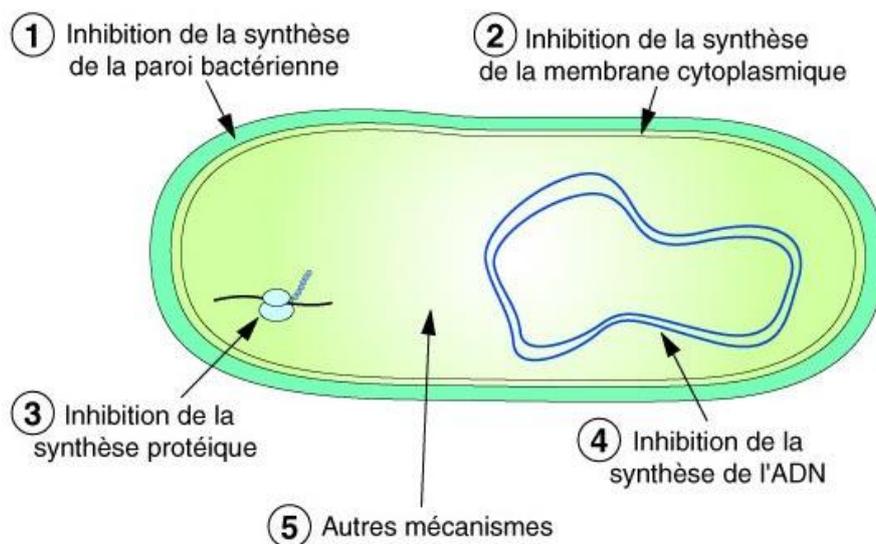
Ils agissent par :

• **Toxicité sélective au niveau de la :**

- Synthèse de la paroi bactérienne
- Membrane cytoplasmique
- Synthèse des protéines
- Acides nucléiques

• **Inhibition compétitive :**

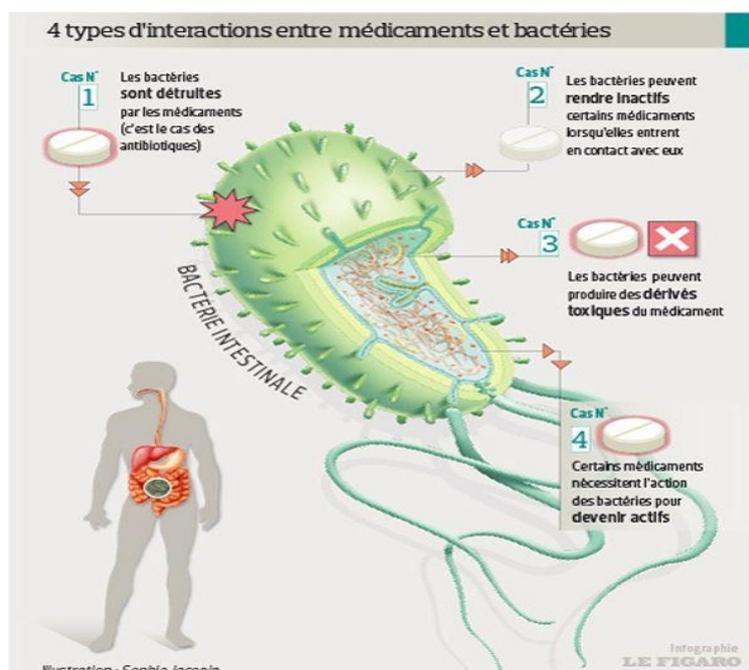
Dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural (**Figure I.3**), il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie. [20]



**Figure I.3** : mode d'action d'un médicament antibactérien [21]

- **Types d'interactions entre les médicaments et la bactérie**

La **figure I.4** illustre les différentes interactions possibles pouvant exister entre les médicaments et une bactérie.



**Figure I.4** : interaction médicament-bactéries [22]

### I.3.4. Effet antibactérien

L'effet antibactérien d'un antibiotique sur une souche bactérienne, est apprécié sur la courbe de croissance de la population bactérienne de cette souche.

L'action d'un antibiotique sur la population de bactéries d'une souche bactérienne se manifeste, pour une concentration déterminée, par un effet antibactérien qui peut être soit nul soit une bactériostase (bactériostatique) soit une bactéricide.

➤ **Effet antibactérien nul**

Effet antibactérien nul ne provoque aucun changement de la croissance bactérienne.

➤ **La bactériostase (effet bactériostatique)**

Consiste en un ralentissement de la croissance de la population bactérienne pouvant aller jusqu'à une absence de croissance. L'effet (ou activité) bactériostatique d'un antibiotique sur la population d'une souche bactérienne est indiquée par la détermination de la mesure de la CMI (concentration minimale inhibitrice). Cette CMI entraîne un ralentissement de la croissance de la population bactérienne tel qu'il atteint une absence de croissance.

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'un antibiotique donné capable d'interrompre, dans un milieu et à des conditions parfaitement définis, toute croissance visible d'une souche bactérienne donnée.

➤ **Effet bactéricide**

Consiste en la destruction d'une partie de la population bactérienne d'une souche bactérienne. L'effet (ou activité) bactéricide d'un antibiotique sur une souche bactérienne est indiquée par la détermination de la mesure de la CMB (concentration minimale bactéricide).

La CMB d'un antibiotique pour une souche bactérienne donnée est définie comme la plus faible concentration de cet antibiotique permettant une réduction du nombre de survivants de la population de cette souche. L'activité bactéricide d'un antibiotique peut être dépendante du temps (antibiotiques bactéricides temps dépendant) ou être dépendante de la concentration (antibiotiques bactéricides concentration dépendant).

L'effet post-antibiotique est l'effet antibactérien observé après suppression du contact de la population bactérienne avec l'antibiotique. La tolérance est un état acquis par une partie de la population d'une même souche bactérienne dans lequel un antibiotique réputé bactéricide reste bactériostatique mais perd son effet bactéricide. [23]

## I-4. Médicaments antifongiques

### I-4-1. Introduction

De nos jours, les infections fongiques posent deux défis majeurs aux médecins. Le premier est l'augmentation croissante de leur prévalence : comme jamais auparavant, les mycoses touchent désormais un éventail d'hôtes très large et sont causées par un nombre étonnamment élevé d'espèces fongiques.

Le second défi est lié à l'apparente complexité de l'étude des champignons et du développement de tests pour le diagnostic des mycoses, qui décourage de nombreux chercheurs d'étendre leur connaissance des maladies fongiques au-delà des concepts les plus fondamentaux ». Ainsi débutait la préface que **Frank Odds** donnait, il y a près de vingt ans, à un ouvrage dédié aux mycoses humaines. [24]

### I-4-2. Définition des champignons

Les champignons, dont font partie les moisissures, sont des organismes Eucaryotes aérobies. Ni plantes ni animaux, ils constituent un règne à part (Eumycota) dans le monde vivant. [25]

Ils sont uni- ou pluricellulaires, incluant des espèces macroscopiques (macro mycètes) et d'autres microscopiques (micromycètes) d'aspect filamenteux ou lévuriforme. Ces derniers peuvent devenir visibles lorsque leur développement est important. Ces champignons sont appelés couramment «moisissures», véritables agglomérats de filaments mycéliens et d'organes fructifères capables de coloniser des substrats très divers (végétaux, papier, cuir, murs...). Il s'agit d'organismes hétérotrophes (nécessitant une source de carbone et d'azote pour leur développement) et ubiquistes.

Une caractéristique majeure des champignons est leur mode de reproduction ; ils produisent un grand nombre de spores, ce qui leur assure un pouvoir de contamination considérable. Les spores sont issues de plusieurs modalités de reproduction sexuée ou asexuée qui représentent le principal critère de leur classification [26]. Les fongiques, ou les champignons sont des micro-organismes eucaryotes qui font partie des protistes supérieurs. Les champignons sont des micro-organismes filamenteux, dont l'élément structural est l'hyphe, plusieurs hyphes formant le mycélium ou thalle.

Le règne des champignons est composé de quatre phylas : chytridiomycota, zygomycota, ascomycota et basidiomycota [27].

### I-4-3. Propriétés principales

Les propriétés principales des champignons (formes, croissance, métabolisme...) sont regroupées dans le tableau **I.1** suivant :

**Tableau I.1** : propriétés des fongiques. [28]

Propriétés des champignons	
formes	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Structure filamenteuse. Hyphes ou filaments à paroi souvent composées de chitine, septées ou siphonnées</li> <li>• espèces dimorphiques avec une forme levure qui se multiplie par bourgeonnement ou scissiparité (<i>Candida albicans</i>...)</li> </ul>
Croissance des hyphes	Croissance strictement apicale, puis ramification de l'hyphe conduisant à la formation d'un mycélium ou thalle
Métabolisme général	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chimio-hétérotrophes</li> <li>• Source de carbone et l'énergie : moléculaire carbonées organiques</li> <li>• Suivant les espèces, peuvent lyser des polymères complexes grâce à des enzymes extracellulaires : cellulose, amidon, pectines, mais aussi des protéines, des lipides...</li> </ul>
Métabolisme spécifique	Fabrication de métabolites fongiques toxique (exotoxines) par des moisissures saprophytes ; appelées mycotoxines, ces molécules sont toxiques pour l'homme, les animaux et même les plantes
Mode de reproduction	Sexuée ou asexuée par l'intermédiaire de spores
Habitats naturels et autres	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Air, eaux, sols...vivent en saprophytes ou parasites</li> <li>• Champignons pathogènes pour l'homme, agents d'aspergilloses, dermatophytoses...</li> </ul> <p>Matières premières alimentaires, aliments...pouvant être contaminés par des moisissures toxinogènes</p>

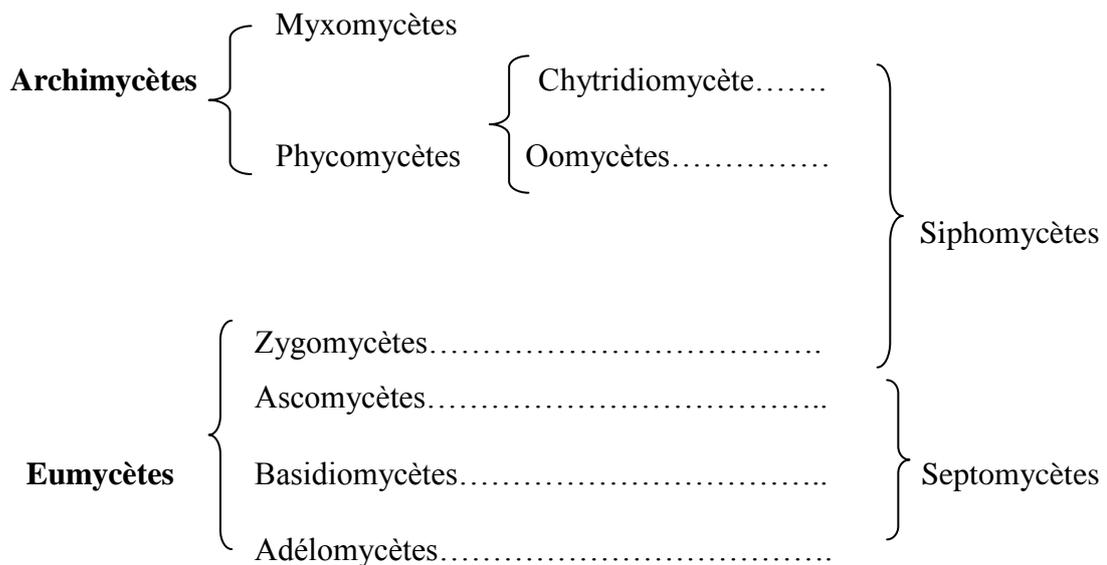
**I-4-4. Principaux groupes de champignons**

Deux grands ensembles sont à distinguer :

➤ Les archimycètes, dont le thalle est un cénocyte (nombreux noyaux non séparés par des cloisons) formant soit un tube continu plus ou moins ramifié ou siphon (siphomycètes), soit un plasmode de type amiboïde (myxomycètes).

Tous les Archimycètes se multiplient de manière asexuée, bien que la reproduction sexuée soit souvent présente : des formes flagellées nageuses constituent dans les deux cas les modes de dispersion

➤ Les vrais champignons ou Eumycètes, toujours dépourvus de cellules à flagelles. La reproduction sexuée devient prédominante [29]. Les classes des champignons sont :



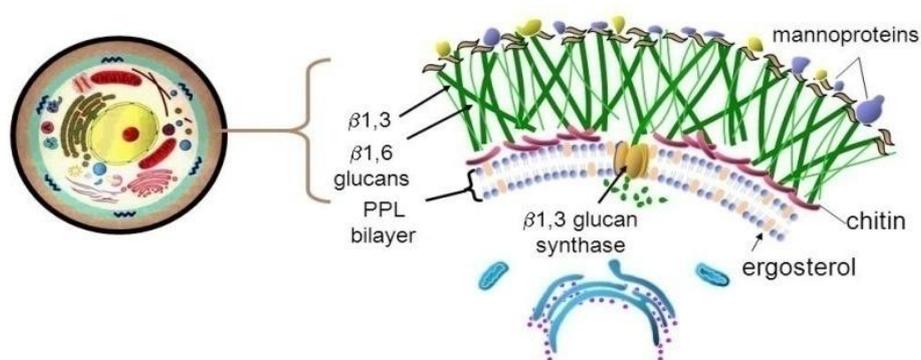
**I-4-5. Les infections fongiques**

**I-4-5-1. Définition**

Les mycoses sont des infections à champignons, organismes végétaux, dépourvus de chlorophylle, de structure filamenteuse ou unicellulaire. Les champignons font généralement partie de la flore commensale d'un individu, mais, plus généralement, vivent en saprophytes dans le milieu extérieur.

Ils deviennent le plus souvent pathogènes et invasifs soit d'une inoculation massive (aspergillose pulmonaire p. ex.) soit à la faveur d'un terrain particulier (hôte immunodéprimé, traitement antibiotique déséquilibrant la flore commensale).

Les infections fongiques systémiques se rencontrent presque exclusivement chez les patients immunodéprimés. Même si l'anatomie et la physiologie de ces organismes sont particulières, ils font partie du règne des eucaryotes, ce qui rend plus difficile la mise au point de médicaments à mode d'action ciblé. En outre, une étape déterminante dans l'action des antifongiques est leur capacité à atteindre leur cible moléculaire, car les champignons (**Figure I-5**) sont protégés par une enveloppe de nature chimique complexe, mais essentiellement hydrophobe (chitine, phospholipides, stérols, glycoprotéines). [30]



**Figure I-5.** Schéma d'un fongique et sa composition biochimique

#### I-4-5-2. Historique d'antifongique

- Jusqu'à la fin du XIXe siècle, les seuls médicaments disponibles pour le traitement des mycoses superficielles étaient les sels inorganiques comme le permanganate de potassium ou l'arsenic.
- Au début du XXe siècle, les premiers médicaments antifongiques organiques topiques ont été introduits, comme l'acriflavine, le violet de gentiane, l'acide benzoïque et l'acide acétylsalicylique. [31]

La difficulté principale dans la découverte de composés antifongiques est due à la ressemblance structurale entre les cellules fongiques et les cellules des mammifères. Cette ressemblance induit que les molécules antifongiques sont généralement toxiques pour les cellules des mammifères. [32]

- Les traitements plus spécifiques des infections fongiques ont été découverts au milieu du XXe siècle.

- La première molécule fut isolée de l'ascomycète *Penicillium griseofulvum* en 1939, la griséofulvine. En 1950 fut isolée la nystatine de l'actinobactérie *Streptomyces noursei*; et en 1955 l'amphotéricine B de *Streptomyces nodusus*.
- En 1963 fut synthétisée la 5-fluorocytosine ; et en 1969 apparurent les azoles tels que le clotrimazole, l'éconazole, l'isoconazole et le tioconazole. [33]

## I-5. Les nanoparticules

### I-5-1. Définition

Le mot nanoparticule vient du grec « nano » qui signifie nain, et de particule qui désigne la quantité la plus infime d'un corps. Outre cet aspect étymologique, le préfixe nano désigne une échelle de grandeur de l'ordre du milliardième de mètre ( $10^{-9}$  m). Conformément à la norme européenne ISO TC 229, une nanoparticule est un objet qui a une taille comprise entre 1 et 100 nm sur au moins une de ses dimensions.

Ainsi, La nano-médecine ou nano-biotechnologie est l'application des nanosciences à la recherche biomédicale. Les propriétés particulières d'interaction des nanoparticules avec le vivant en font des outils extrêmement intéressants pour plusieurs domaines de la recherche fondamentale et clinique, tels que la fabrication des biomatériaux, le diagnostic, l'administration de médicaments, la vaccination, la médecine régénératrice, l'imagerie médicale et la purification des biomolécules.

Dans tous ces domaines l'utilisation des nanoparticules connaît un essor croissant et montre des résultats prometteurs. [34, 35]

### I-5-2. Classification de principales nanoparticules

En fonction de la nature chimique de leur structure, plusieurs catégories de nanoparticules sont utilisées en vectorisation (**figure I.6**).

- **Liposome**

Ce sont des vésicules artificielles, sphériques, formées par une ou plusieurs bicouches de phospholipides séparées entre elles par un espace aqueux. Les liposomes sont classés en trois catégories, en fonction de leur taille et du nombre de bicouches lipidiques. Les Small Uni-lamellar Vesicles (SUV) qui sont de petits liposomes d'environ 20-100nm de diamètre possédant une seule bicouche de phospholipides, les Large Uni-lamellar Vesicles (LUV) qui sont des liposomes à une seule bicouche de taille très hétérogène et les Multi-lamellar

Vesicles (MLV) qui possèdent deux ou plusieurs bicouches lipidiques séparées entre elles par un milieu aqueux. [36]

- **Micelles**

Les micelles sont des nanoparticules auto-assemblées de 10 à 100nm, constituées d'une couronne de molécules amphiphiles en équilibre dynamique autour d'un cœur non solide [37]. En solution aqueuse, les molécules amphiphiles s'organisent spontanément et adoptent la conformation structurelle la moins coûteuse en énergie, en minimisant les interactions de leurs parties hydrophobes avec l'environnement aqueux. En milieu organique en revanche, les molécules amphiphiles adoptent le comportement inverse et ce sont les parties hydrophiles qui sont orientées au cœur de la micelle.

- **Les nanocapsules**

Ce sont des particules colloïdales constituées d'un réservoir liquide ou semi-liquide à température ambiante, contenu à l'intérieur d'une enveloppe solide de nature polymérique [38]. Dans les systèmes nanocapsulaires, les molécules sont généralement incorporées dans le réservoir, mais elles peuvent aussi être associées de façon covalente ou non à la paroi polymérique.

Le type de polymère et les propriétés de surface influencent: la stabilité de la nanocapsule, le type de molécule transportable et la pharmacocinétique de la formulation.

- **Les nanosphères**

Elles se définissent en tant que nanoparticules polymériques colloïdales matricielles; c'est-à-dire dont la structure est entièrement solide. Elles peuvent être pleines ou poreuses. Les nanosphères pleines sont des structures nanométriques compactes, de formes généralement sphériques, synthétisées à base de polymères ou de copolymères.

- **Dendrimères**

Ils appartiennent à une catégorie émergente de nanoparticules synthétisées pour la première fois au début des années 1980. Ce sont des macromolécules nanométriques formées de plusieurs séries de branchements organisés, reliés par un cœur moléculaire. [39]

Les dendrimères sont des nano-vecteurs très intéressants, peu poly dispersés, dont le système de branchement permet de faire plusieurs types d'association chimique sur les différents groupes terminaux. Les molécules transportées sont insérées entre les branchements ou associés chimiquement à ceux-ci

- **Les nanoparticules inorganiques**

Elles possèdent des propriétés particulières de conductivité, de magnétisme, de biocompatibilité, de réactivité, de résistance, de fluorescence, etc. qui les rendent très intéressantes pour différentes applications y compris le diagnostic et le traitement des maladies. [40]

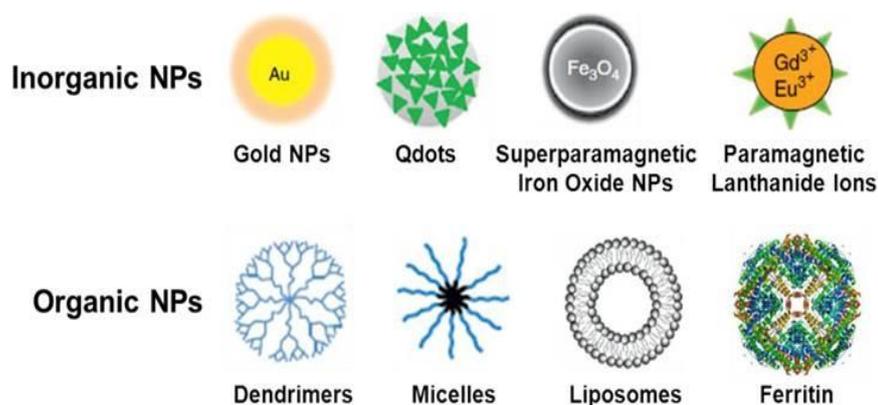
- **Les nanoparticules hybrides métal-organique**

Egalement appelés MoF (pour Metal-organic Framework), ce sont des nanoparticules hybrides faites d'éléments métalliques interconnectés par des molécules organiques.

Elles peuvent également être placées dans la catégorie des nanosphères et se caractérisent par leur grande porosité (taille des pores allant de 0,4 à 6nm) [41]. Cette importante porosité donne aux MoFs une plus grande capacité d'encapsulation (proportionnellement à leur taille), comparé aux autres nanosphères [42].

- **Nanoparticules polysaccharidiques cationiques et poreuses de maltodextrine**

Ce sont des nanosphères poreuses de 60 nm de diamètre, obtenues par polymérisation de malto dextrines. Les malto dextrines sont des polysaccharides naturels issus de l'hydrolyse enzymatique partielle d'amidon.



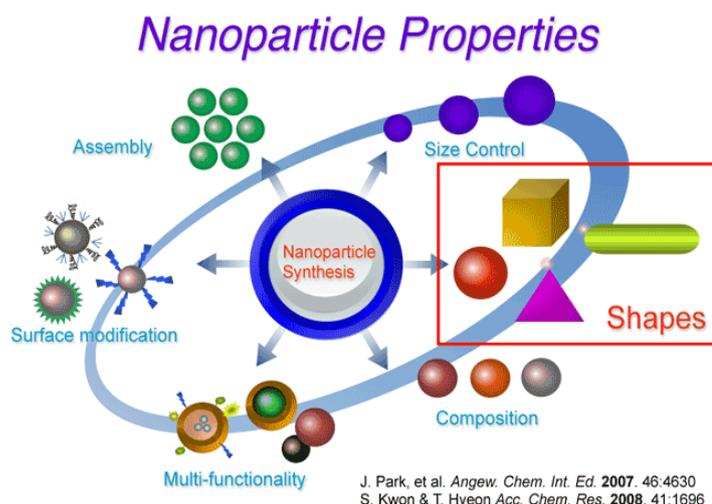
**Figure I-6.** Principales nanoparticules (organique, inorganique NPs) [42]

### I-5-3. Différents procédés d'élaboration des nanoparticules

Il existe de très nombreuses méthodes d'élaboration de nanoparticules permettant l'encapsulation de substances hydrophobes ou non. Ces méthodes peuvent se classer selon deux catégories. Elaborations directes et celles à base de polymères préformés. Parmi les élaborations directes on peut ainsi citer la polymérisation en émulsion qui permet de créer

rapidement des nanoparticules. Cette technique est également utilisée pour l'élaboration de nanocapsules en réalisant une polymérisation inter-faciale (par exemple de cyanoacrylate).

Cela permet ainsi d'obtenir une capsule contenant un cœur non solide et une couronne de polymère plus ou moins dense ou épaisse (**Figure I-7**). Les méthodes utilisant un polymère préformé sont très nombreuses. [43]



**Figure I-7.** Formes, tailles et structures microscopiques des nanoparticules [43]

#### I-5-4. Les procédés de simple et double émulsion/évaporation de solvants

Permettent d'obtenir des nano-objets à cœur hydrophobe ou hydrophile suivant le polymère et les solvants utilisés.

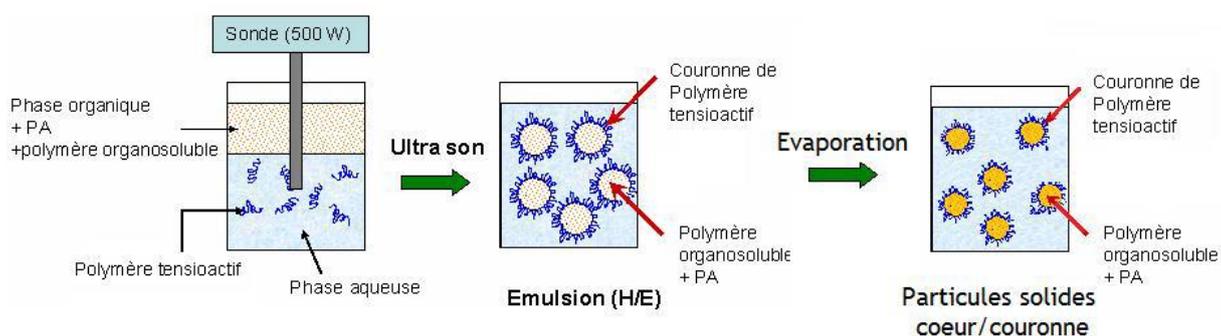
Une autre méthode dérive de l'émulsion : c'est la méthode de « salting out » qui reprend le principe de diffusion d'un solvant miscible à l'eau par l'ajout d'un agent salin. La technique de nano précipitation regroupe la nano précipitation par injection ou encore par dialyse. [44]

- **Emulsion/évaporation de solvant**

L'émulsion/évaporation de solvant consiste à former une émulsion préalable à partir de deux phases non miscibles. La phase continue contient des tensioactifs, moléculaires ou polymères, qui s'adsorbent alors à l'interface liquide/liquide et stabilisent ainsi l'émulsion. La phase dispersée contient le ou les polymères destinés à former le cœur des particules.

Un apport d'énergie (agitation mécanique, vortex ou ultrasons...) est nécessaire pour former les gouttes. Dans le cas de la fabrication de nanoparticules, des ultrasons sont couramment utilisés. Une fois les nano gouttes formées, le solvant organique est évaporé dans

une seconde étape. C'est pourquoi il doit être volatil. Une dispersion de nanoparticules solides est alors obtenue (voir **Figure I-8**). [45]



**Figure I-8.** Obtention de nanoparticules par émulsion simple/évaporation de solvant [45]

L'avantage majeur du procédé d'émulsion/évaporation de solvant est l'efficacité d'encapsulation des principes actifs hydrophobes. Du fait de la non miscibilité des deux phases employées. [46]

Le principe actif hydrophobe est majoritairement présent dans la phase discontinue et se trouve ensuite encapsulé au cœur des particules. L'encapsulation de principes actifs hydrophiles présente quant à elle une efficacité amoindrie. Afin de pallier ce problème, des émulsions doubles sont mises en œuvre. On peut par exemple citer les nanoparticules de PLGA recouvertes d'une couche hydrophile d'acide hyaluronique et contenant une sonde fluorescente hydrosoluble modèle, le dextrane-FITC. [47]

### I-6. Définition des clusters :

Le terme de cluster a été proposé en 1966 par **F.Cotton** [48] pour désigner des complexes polynucléaires présentant plusieurs liaisons directes métal-métal. Cette association de plusieurs atomes liés entre eux forme un arrangement polygone ou polyédrique auquel sont attachés des ligands situés à l'extérieur.

Le terme ligand signifie d'une manière générale un substituant atomique ou moléculaire non métallique, lié aux atomes constituant la cage polyédrique et donc situé dans la périphérie immédiate de cette cage.

Jusqu'au 1960, peu de clusters étaient connus par manque de moyens et de techniques de synthèses et de caractérisation [49]. Ce n'est qu'après 1960 que la synthèse et la caractérisation de clusters ont été développées par des techniques physico-chimiques

modernes. En particulier grâce aux travaux de cristallographes tels que ceux de **Dahl** [50]. Il est souvent commode de classer ce genre de composés en deux grandes catégories selon quelles ligands soient donneurs ou accepteurs.

Les clusters à ligands donneurs sont généralement constitués d'éléments de transition situés à droite du tableau périodique, ils s'associent à des ligands tels que :  $O^{2-}$ ,  $S^{2-}$ ,  $Cl^-$ ,  $Br^-$ ,  $I^-$  et  $OR_4^-$ , le métal étant le plus souvent dans les états d'oxydation +II ou +IV.

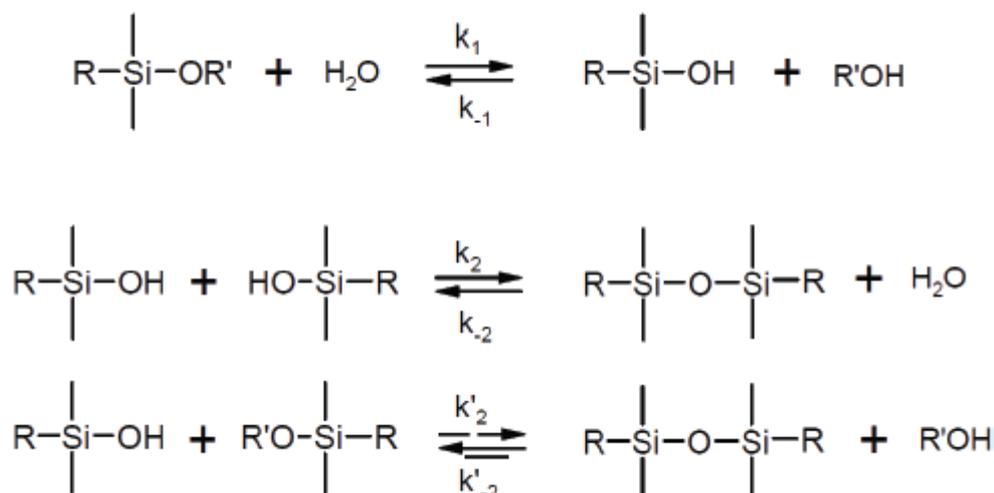
La seconde catégorie, celle des clusters à ligands accepteurs, a été la plus étudiée. Les structures moléculaires à ligands du type  $CO$ ,  $NO^+$ ,  $CNR$ ,  $PR_3$  ou  $C_5H_5$  sont extrêmement variées et la compréhension de leur stabilité a fait l'objet de nombreuses études théoriques.

Un cluster est un ensemble d'au moins trois atomes du même élément, ou d'éléments voisins, directement liés les uns aux autres.

### **I-6-1. Les organosilanes et leur réactivité**

Un organosilane est un composé organo-fonctionnel de formule générale  $R_nSiX_{(4-n)}$ , avec  $n=1, 2$  ou  $3$ ,  $X$  désignant un groupement hydrolysable et  $R$  un groupement organique non hydrolysable pouvant être porteur d'une fonction intéressante pour interagir avec le milieu d'application. Parmi les organosilane, nous nous concentrerons sur les organoalcoxysilanes, dont la formule est  $R_nSi(OR')_{(4-n)}$ .

La réactivité des organosilane est largement décrite dans la littérature [51]. Lorsqu'un organoalcoxysilane se trouve en présence d'eau, la première réaction qui a lieu est l'hydrolyse des groupements alcoxy en silanols. Dès la première hydrolyse réalisée, le silane peut condenser sur lui-même (homocondensation) pour former des dimères ou des oligomères, ou sur une surface d'oxyde (greffage) afin d'en modifier les propriétés. Les réactions mises en jeu sont les suivantes :



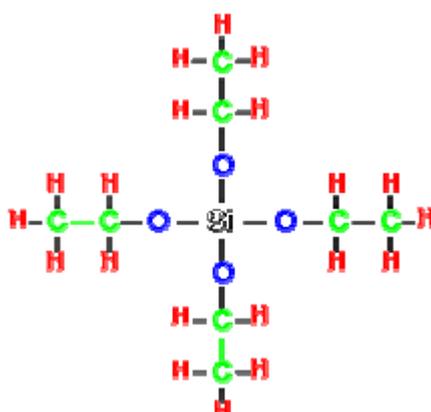
**Figure I-9.** Schéma de réactions chimiques mis en jeu

### I-6-1-1. Orthosilicate de tétraéthyle (TEOS)

#### ➤ Définition

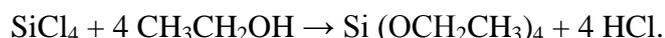
L'orthosilicate de tétraéthyle (TEOS) est un composé chimique de formule  $\text{Si}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_4$  ou plus simplement  $\text{Si}(\text{OEt})_4$ ; l'abréviation TEOS (pour tetraethylorthosilicate) est généralement utilisée dans l'industrie du sol-gel, où il est intensivement étudié. La majorité des études en sol-gel pour des sols de silices ont utilisé ce produit comme précurseur.

Le produit de synthèse utilisé pour le dépôt des couches minces employé dans le cadre de ce travail est un monomère de la famille des organosiliciés, il s'agit de Tetraethylorthosilicate (TEOS), ou d'une manière équivalente tétra-ethoxy-silane. Sa formule chimique semi-développée est représentée sur la (figure I-10) suivante :

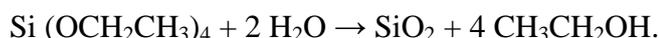


**Figure I-10.** Formule chimique du tetraethylorthosilicate (TEOS)

Le TEOS est généralement produit par alcoololyse du tétrachlorure de silicium  $\text{SiCl}_4$  dans de l'éthanol  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  :



Il est utilisé pour la réticulation de silicones et possède certaines applications comme précurseur du dioxyde de silicium  $\text{SiO}_2$  dans l'industrie des semi-conducteurs dans le cadre d'une réaction sol-gel. La propriété remarquable du TEOS est en effet de former du  $\text{SiO}_2$  par simple hydrolyse en libérant de l'éthanol  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$  :



Le TEOS est un liquide à la température ambiante avec une pression de vapeur d'environ 1.5 torr. Il est caractérisé par sa stabilité, son faible coût et sa facilité d'emploi.

Les films élaborés à partir de ce monomère possèdent des propriétés intéressantes : une bonne transparence, une bonne adhérence sur divers substrats ainsi qu'une bonne propriété thermique. Comme la plupart des organosiliciés, le TEOS n'est ni toxique ni explosif et inflammable. Le **tableau I.2** suivant présente quelques caractéristiques de la molécule de TEOS. [73]

**Tableau I-2** : Propriétés physiques de la molécule de TEOS

Caractéristique	TEOS
Pureté (%)	99.999
Poids moléculaire (g/mol)	208.33
Point d'ébullition (°C)	168
Densité ( $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	0,934
Indice de réfraction	1.382

### **I-6-1-2. Greffage d'organosilanes sur les surfaces de silice**

Le mécanisme classique consiste tout d'abord en l'hydrolyse des groupements alcoxy du silane.

Celui-ci peut alors se condenser sur lui-même et/ou simultanément s'adsorber par liaisons hydrogène sur la surface de la silice. La dernière étape est la condensation entre le silane hydrolysé et les groupements silanols de la silice [52]. Pour les silanes multifonctionnels, les fonctions qui n'ont pas réagi avec la surface sont généralement hydroxylées par l'eau présente dans le milieu. Ces groupements sont donc susceptibles d'induire des condensations ultérieures, conduisant à des architectures plus complexes.

Un mécanisme de fonctionnalisation par ouverture des ponts siloxanes est Postulé. [53]

### **I-6-2. Application des complexes de nanoparticules de clusters aux médicaments antibactériens et antifongiques**

#### **I-6-2-1 Historique sur les médicaments à base d'argent :**

-les Macédoniens plaçaient des plaques en argent, sur les blessures pour aider à une cicatrisation saine et rapide.

-vers 400 ans avant JC, Hippocrate enseignait que la fleur d'argent, une poudre ultra-fine, cicatrisait les blessures ulcérées.

- En 69 ans avant JC, le Nitrate d'Argent figurait en bonne place dans la pharmacopée romaine.

- En 78 ans AJC, Pline l'Ancien, dans son Histoire naturelle, écrit que l'Argent possède des propriétés thérapeutiques et se révèle « très efficace dans la cicatrisation des blessures, quand il est incorporé au plâtre »

- Jabir Ibn Hayyan (721-815), rapporte que le "nitrate d'argent" possède de puissantes propriétés thérapeutiques.

- Ibn Sina (980-1037), utilisait l'Argent pour purifier le sang, entre autres sous forme de poudre et de pilules argentées, l'ancêtre de l'argent colloïdal.

- Philippe vonHohenheim, dit Paracelse (1493-1541), enseignait l'usage médical de l'argent.- Les médecins chinois utilisaient l'Argent dans la fabrication de toniques à base de

plantes et pour traiter les infections, suppurations chroniques, blessures septiques, fièvres et sinusites.

-En 1884, Franz Crede, observant qu'un certain nombre d'enfants naissaient aveugles après avoir été exposés à des germes vénériens lors de l'expulsion de l'utérus, eut l'idée d'instiller avec succès dans les yeux des nouveau-nés une solution à 1% de Nitrate d'Argent. Avec l'instauration de cette pratique, le taux d'ophtalmie des nouveaux nés tomba de 10% à 0,2%.

En conséquence, cette pratique devint obligatoire dans la plupart des pays européens et aux USA. Elle se poursuivit même après l'apparition des premiers antibiotiques en 1940. Le nitrate d'argent comparés aux différents antibiotiques issus de laboratoires pharmaceutiques, le nitrate d'argent a été retenu comme le plus efficace et ayant le moins effets secondaires.

- En 1893, Karl vonNägeli, ce botaniste suisse rapporta que des bactéries mises en contact avec une solution de nitrate d'Argent (titrée à 10 PPM), l'Argent Colloïdal, mouraient en trois ou quatre minutes.

-En 1897, le Dr Benno Crede introduisit l'usage en médecine de l'Argent Colloïdal, argent sous forme de particules microscopiques dispersées dans l'eau, spéculant que l'Argent Colloïdal pourrait posséder les propriétés germicides des sels d'argent sans en avoir la toxicité.

- Pendant la Première Guerre Mondiale, des feuilles d'Argent étaient utilisées pour combattre l'infection des blessures, ce qui renouait avec la lointaine tradition des Macédoniens.

- En 1918, durant l'épidémie de H1N1, dite "Grippe Espagnole", qui était une variante de la peste noire du Moyen-âge, le Dr Edouard Prouvost fut amené à traiter de très nombreuses personnes atteintes par cette pandémie. Dans son livre, édité par Jouve Cie en 1919, Remarques Cliniques et thérapeutiques sur l'épidémie de grippe de 1918", le Dr Prouvost saluait les très bonnes performances de l'Argent Colloïdal dans la guérison de ses patients.

Au début du XXe siècle, la Médecine occidentale avait donc fait la preuve des remarquables propriétés thérapeutiques de l'Argent-colloïdal. Dès lors, son emploi se généralisa et il devint l'un des médicaments les plus administrés, aussi bien par voie interne que sous forme de gargarismes, de gouttes (nez, yeux, oreilles), d'applications externes

locales, et dans certains cas spécifiques, comme lors de la pandémie de H1N1, en injections. En 1938, on comptait plus de quatre-vingt-dix préparations médicales brevetées à base d'argent.

A partir des années cinquante, l'argent-colloïdal a dû céder la place à de nouvelles substances, qui semblaient vouloir révolutionner la médecine. L'Ère des Antibiotiques brevetés par les Laboratoires pharmaceutiques venait de s'ouvrir. Les antibiotiques étaient d'un emploi plus simple et coûtaient moins cher à fabriquer que les produits à base d'argent. L'argent-colloïdal fut pendant un demi-siècle plongé dans l'oubli.

-En 1999, une étude comparative a été menée, comparant les performances des antibiotiques les plus réputés et un Argent Colloïdal commercialisé aux Etats Unis, sous la marque ASAP. [96]

#### **I-6-2-2. Application des complexes de nanoparticules de clusters aux médicaments antibactériens et antifongiques :**

L'utilisation des NpAg comme agent antibactérien est bien documentée [54]. L'argent a été décrit comme oligodynamique en raison de son habilité de bactéricide à faible concentration [55]. L'ion argent est connu pour être hautement réactif en se liant rapidement aux charges négatives des anions et des protéines [56], ainsi qu'à l'ARN et l'ADN [57].

Par conséquent, les propriétés antibactériennes de l'ion argent ont été attribuées à son interaction avec les groupements thiols [58], ainsi qu'avec les carboxylates, les phosphates, les hydroxyles, les imidazoles, les indoles et les amines [59].

Les NpsAg sont utilisées dans les pansements, particulièrement pour les brûlures, les ulcères chroniques et les blessures diabétiques et traumatiques [60]. On propose également d'utiliser les matériaux contenant de l'argent pour réduire les infections dans un grand nombre de conditions, incluant les greffes vasculaires, les matériaux dentaires et les biomatériaux métalliques [61].

Des études indiquent certaines limites à l'application de l'argent sous forme ionique. En effet, [40] évaluent que les propriétés antibactériennes des NpsAg (25-50 nm) sont plus grandes que celles de l'argent dissous, notamment pour aider à la résistance aux médicaments. D'autres études ont démontré la capacité des NpsAg à améliorer l'activité antibactérienne des antibiotiques. [62]

En effet, l'activité antibactérienne de la pénicilline G augmente en présence de celles-ci (~22,5 nm) [63]. Ont étudié l'effet de la taille des NpsAg pour différents types de bactéries.

Cette étude prouve que l'activité antibactérienne des particules augmente avec la diminution de leur taille.

De plus, la dose létale de NpAg pour les bactéries étudiées est de 75 J-Ig/mL. La taille et la forme des Nps ont donc un effet significatif sur l'efficacité antibactérienne. Auparavant, l'argent (Ag) avait été montré comme inhibiteur à la photosynthèse [64]. Dans ce sens, (ont étudié l'inhibition de la photosynthèse de l'Ag et les NpsAg. Leurs résultats ont montré le rôle déterminant de l'Ag<sup>+</sup> libre dans la toxicité des NpsAg, avec l'apparition d'interactions entre elles et les algues. Ainsi, ce ne sont pas uniquement les facteurs abiotiques ou les conditions chimiques de l'environnement qui influencent la dissolution, la forme et la surface des NpsAg [65]

À présent, nous devons considérer les interactions biotiques pour évaluer les risques des nanomatériaux dans les écosystèmes aquatiques [66]. Enfin notons qu'ils ont étudié les propriétés antivirales des NpsAg (~ 10 nm) sur le virus du VIH. L'étude démontre que la réplication du VIH-I était inhibée à 50 J-IM. Les cellules traitées avec 50 J-IM de NpAg montraient une réduction importante des cellules apoptotiques. Cela signifie que les NpsAg sont capables d'inhiber la réplication virale de HutlCCR5, d'où la réduction du VIH.

### **I-6-2.2. Action de nanoparticules de clusters sur les infections**

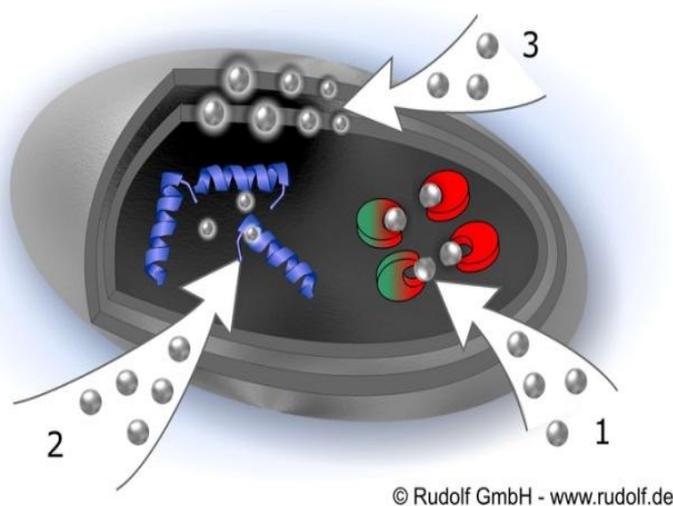
Lorsque les ions Ag<sup>+</sup> sont absorbés dans les cellules de virus, bactéries, champignons et assimilés, les ions argent entravent la croissance de l'enzyme requise pour la respiration cellulaire, ce qui les détruit par conséquent. Par ailleurs, les ions argent inhibent le métabolisme des bactéries et mettent ainsi fin à leur reproduction. [67]

Par ailleurs, détermine que la fixation de l'argent sur les bactéries inhibe les protéines, provoque le détachement de la paroi cellulaire, la condensation de l'ADN et mène à la destruction de la bactérie. [68]

L'action antibactérienne et antimicrobienne des nanoparticules d'argent est similaire à celles des particules de métal d'argent de plus gros volumes. Cependant, les ions Ag<sup>+</sup> qui se dispersent et agissent donc comme antimicrobiens sont ceux qui se trouvent à la surface des particules. La taille nano des particules garantit une plus grande surface de métal en contact avec l'extérieur par masse d'argent, et donc une meilleure capacité de dispersion (solubilité en contact avec les molécules d'eau notamment). [69]

En règle générale, le taux de dispersion définit la durabilité des particules d'argent, et donc les niveaux de dosages requis pour garantir une durabilité donnée.

Classe les additifs argent antimicrobiens en fonction de la dispersion des ions et de la quantité d'argent requise dans l'utilisation finale. Le nano-argent constitue selon ce schéma la technologie la plus « durable » car nécessitant une moins grande quantité d'argent que les antimicrobiens, qui rejettent moins d'ions  $\text{Ag}^+$  ainsi qu'une plus faible quantité d'argent sur sa durée de vie comparé à des produits rejetant de plus fortes quantités d'ions  $\text{Ag}^+$  (**Figure I-11**)



**Figure I-11.** Structure d'action de nanoparticule de clusters sur l'infection [net.com]

Tel que :

- **1** : Destruction de la membrane cellulaire (inhibition des azymes)
- **2** : Inhibition de la réplication de l'ADN
- **3** : Ions d'argent

## I-7. Les agents de préparation des nanoparticules

### I-7-1. L'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC)

#### ➤ Définition

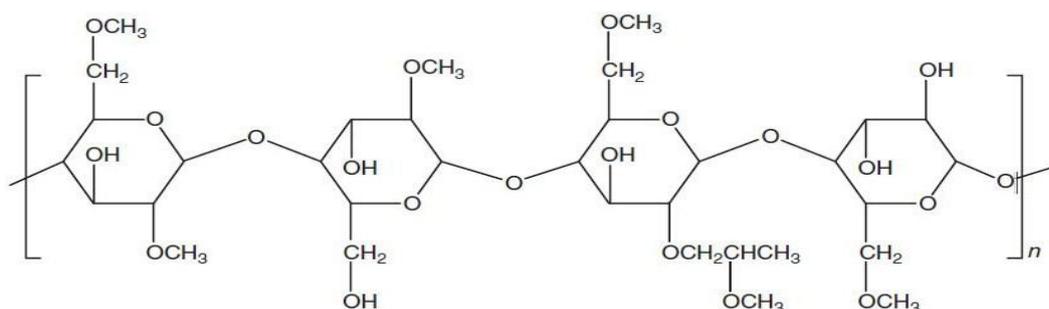
L'excipient le plus étudié est l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC). L'HPMC est un polymère hydrophile non ionique préparé par traitement de la cellulose, provenant de la pulpe de bois ou des fibres de Cotton avec des produits alcalins, et avec de l'oxyde de propylène. Le nombre de substituant par unité est connu par le degré de substitution (D.S.).

Le nombre de substituant détermine les propriétés des différents produits de HPMC. La viscosité du polymère est utilisée comme indication de sa masse moléculaire, et une

augmentation de la viscosité du polymère dans une formulation matricielle augmente la viscosité de la couche gélifiée. [70]

L'HPMC est connu comme excipients prolongateur de libération des médicaments, il a réalisé beaucoup de succès dans ce domaine

L'Hydroxypropylméthylcellulose ou HPMC est selon la Pharmacopée Européenne une poudre blanche ou sensiblement blanche, fibreuse ou de granuleuse. Elle est Insoluble dans l'alcool déshydraté, dans l'éther et dans le chloroforme. La structure chimique de l'HPMC est présentée dans la **figure I-12**



**Figure I-12.** Structure typique du dérivé cellulosique Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC)

### I-7-2. Avantages de l'HPMC

L'avantage essentiel de formulations hydrophiles basées sur l'HPMC est l'indépendance de la libération du PA de variables telles que la force de compression, la taille des particules du PA et la nature des lubrifiants utilisés dans la compression. Alors que la force de compression a peu d'effet sur la vitesse totale de libération du médicament, elle peut influencer le stade initial d'hydratation de systèmes à base d'HPMC.

L'augmentation de la porosité engendre une augmentation de la vitesse de pénétration d'eau, mais affecte peu la vitesse de gonflement et d'érosion des matrices [71].

Les HPMC sont des polymères disponibles dans le commerce, parfaitement connus de l'homme du métier et habituellement utilisés dans le domaine de la formulation des médicaments. A toutes fins utiles, on précise que de tels polymères sont notamment commercialisés sous la marque Methocel™ (distribuée par des sociétés telles que Dow Chemical Co. et Colorcon).

L'HPMC est un dérivé cellulosique non toxique. Il est le plus souvent utilisé en raison de son important potentiel de gélification et de ses bonnes propriétés rhéologiques qui lui confèrent de meilleures caractéristiques de granulation [72].

## I-8 Les procédés Sol-gel

### I.8.1 Historique et définition

Le terme sol-gel a été décrit pour la première fois par le chimiste **E belmen** vers la moitié du XIXème siècle (lors d'une séance à l'Académie des Sciences à Paris le 18 août 1845). Son appellation sol-gel est une contraction des termes « solution-gélification [74].

Par définition, un "sol" est une solution liquide constituée d'un mélange d'oligomères colloïdaux et de petites macromolécules ainsi, que selon le degré d'avancement de la réaction de polymérisation, de différents monomères partiellement hydrolysés. Quant au "gel", il est constitué d'un réseau d'oxyde gonflé par le solvant, avec des liaisons chimiques qui sont dans la plupart des cas des liaisons covalentes, assurant la cohésion mécanique du matériau en lui donnant un caractère rigide, non déformable. Le temps nécessaire au "sol" pour se transformer en "gel" est appelé temps de gel (ou point de gel), et noté tg.

Ainsi, le procédé sol-gel, autrefois, appelé "Chimie douce" repose sur la polymérisation inorganique de précurseurs moléculaires en solution. Cette polymérisation peut être "hydrolytique", c'est-à-dire nécessiter l'ajout d'eau et donc inclure les réactions d'hydrolyse ou, au contraire, être "non hydrolytique" lorsqu'elle est réalisée sans eau. Le cas des gels hydrolytiques est de loin le plus important et le plus répandu. [75]

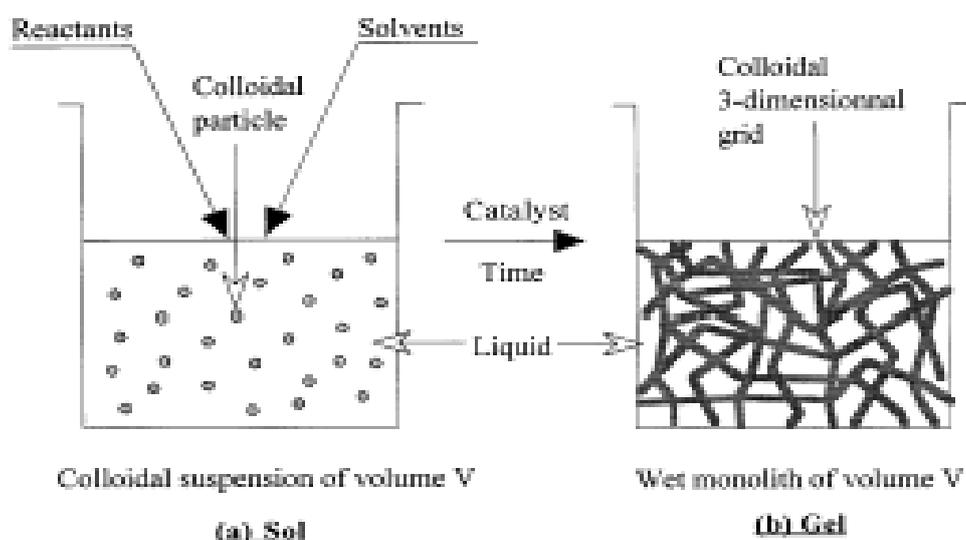
Les sels métalliques (chlorures, nitrates) et les alcoxydes de métaux sont les deux familles de précurseurs les plus utilisées dans le procédé sol-gel hydrolytique. La polycondensation des sels métalliques conduit cependant à des produits secondaires difficiles à éliminer. Incontestablement, la voie impliquant les alcoxydes métalliques est la plus fréquemment mise en œuvre pour élaborer des oxydes de haute pureté, et des matériaux à haute performance. En effet, les seuls sous-produits issus de cette réaction sont des alcools aisément éliminés. Dans la suite de ce paragraphe, nous ne considérerons que l'approche à partir d'alcoxydes.

### I-8-2. Technique

La technique sol-gel est un procédé d'élaboration de matériaux permettant la synthèse de verres, de céramiques et de composés hybrides organo-minéraux, à partir de précurseurs en solution. Il permet de réaliser des couches minces constituées d'empilements de nanoparticules d'oxydes métalliques. (**Figure I.13**)

Ce procédé s'effectue dans des conditions dites de chimie douce, à des températures nettement plus basses que celles des voies classiques de synthèse. Ces conditions offrent également la possibilité d'associer des espèces organiques et minérales pour former de nouvelles familles de composés hybrides organo-minéraux, possédant des propriétés inédites.

Ce procédé peut être utilisé dans différents domaines tels que l'encapsulation et l'élaboration de matériaux hyper-poreux, mais c'est dans la réalisation de dépôts en couches minces qu'il trouve sa principale application. [76]



**Figure I-13.** Schéma montrant les deux étapes et la maturation d'un Sol gel [76]

: a) sol ; b) gel.

## I.9. Les méthodes de caractérisation et d'analyses qualitative et quantitative

### I.9.1 La méthode volumétrique

Cette méthode essentiellement quantitative est basée sur, la mesure exacte du volume de la solution du réactif, de la concentration et la préparation d'une solution titrée. L'analyse volumétrique à un grand intérêt pratique, elle possède un grand avantage en ce qui concerne la rapidité de l'exécution.

La concentration d'une solution aqueuse contenant un acide ou une base est déterminée par le dosage volumétrique. Pour y parvenir, on réalise une réaction acido-basique, que l'on choisit généralement rapide et la plus totale possible. A l'équilibre, les réactifs acides et basiques sont mélangés dans des proportions stœchiométriques déterminées par l'équation de la réaction utilisée [77].

### I-9-2. Spectrophotométrie d'absorption UV-Visible

La spectrophotométrie est une méthode analytique plus quantitative que qualitative, qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de **Beer-Lambert**. La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné, à la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier.

Lorsqu'un faisceau de lumière d'une longueur d'onde donnée est envoyé vers une substance en solution, les molécules de cette substance peuvent interférer avec lumière incidente. Cette interférence consistera en une excitation des électrons qui passent à un état énergétique supérieur et en une interaction avec les mouvements vibrationnels et rotationnels de la molécule [82, 83, 84, 85, 86, 87].

### I-9-3. Spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA)

La spectrométrie d'absorption atomique permet de quantifier les éléments métalliques en solutions. Chaque élément a un nombre spécifique d'électrons associés à la structure électronique du métal. La configuration de l'orbitale à l'état normale et le plus stable des électrons est appelée état fondamental. Lorsque qu'une énergie est fournie à un atome, ce dernier l'absorbe et adopte une configuration électronique appelée état d'excitation. Cet état est instable et l'atome retourne immédiatement à son état fondamental par transition électronique en émettant un photon d'énergie lumineuse propre.

Lors du procédé d'absorption atomique l'énergie fournie à l'atome provient d'une source lumineuse appelée lampe à cathode creuse. L'atome dans son état de base absorbe l'énergie lumineuse à une longueur d'onde spécifique et passe à un état d'excitation. Un détecteur mesure la quantité de lumière absorbée et un signal électronique est produit en fonction de l'intensité lumineuse. Ce signal est traité et la quantité d'analyte dans l'échantillon est déterminée en fonction de l'absorbance mesurée.

Le contact entre les atomes et la source lumineuse est assuré par la cellule d'absorption. La cellule d'absorption est en fait une flamme générée par la combustion d'acétylène en présence d'oxygène. L'échantillon à analyser est aspiré par l'appareil et

transformé en aérosol. La flamme atomise ensuite les éléments contenus dans l'aérosol et les place en travers du faisceau de la lampe à cathode creuse.

La lampe à cathode creuse émet le spectre lumineux spécifique à l'élément analysé. La cathode et l'anode de la lampe sont composées uniquement de l'élément dont le spectre lumineux doit être produit. Un potentiel électrique est appliqué entre l'anode et la cathode, ce qui a pour effet d'ioniser le gaz contenu dans la lampe. Les ions de gaz vont ensuite entrer en collision avec la cathode, ce qui déloge des atomes métallique. Ces atomes vont aussi entrer en collision avec les ions de gaz ce qui les fait passer à un état d'excitation. Ils retournent aussitôt à leur état de base ce qui produit l'énergie lumineuse désirée. [81]

#### I-9-4. Diffraction de rayon X (DRX)

C'est une méthode qualitative et structurale facile à mettre en œuvre, nécessitant de faibles quantités de composés. Elle repose sur la détection de rayons de diffraction d'un réseau cristallin, pour obtenir des informations sur la maille et ses paramètres linéaires et angulaires, sur la symétrie les éléments de symétrie et la périodicité de la maille dans le réseau, en spécifiant son groupe. Cet ensemble d'informations cristallographiques permettent d'élucider la structure d'un solide.

La formation d'un complexe peut être mise en évidence et définie par la diffraction de rayon X, si elle est sous forme cristallisée. [78,79]

#### I-9-5. Spectrophotométrie infrarouge (IR)

Les spectrophotomètres infrarouges sont adaptés aux mesures du spectre dans la région de  $4000\text{ cm}^{-1}$  à  $200\text{ cm}^{-1}$  ( $2,5 - 50\ \mu\text{m}$ ), correspondant au domaine des énergies et des nombres d'onde d'absorption des liaisons, en produisant leurs vibrations et leurs rotations autour de leurs éléments de symétrie. Les spectrophotomètres à transformée de Fourier utilisent un rayonnement poly-chromatique dans le domaine de l'infrarouge moyen.

La technique de spectrophotométrie infrarouge est une méthode à la fois qualitative et quantitative. Elle permet non seulement de reconnaître les groupements fonctionnels par les vibrations des liaisons chimiques, d'énergies et de fréquences propres répondant à une structure bien définie (analyse qualitative), mais aussi de quantifier les composés analysés en utilisant la loi de **Beer-Lambert**, par mesure de l'absorbance à une fréquence ou à un nombre d'onde de résonance, spécifique à un groupement fonctionnel d'une substance en

solution dans le  $\text{CCl}_4$ . La quantification est généralement réalisée par rapport à des solutions étalons de la même substance préparées dans les mêmes conditions.

Le spectre est généralement présenté en fonction de la transmittance, c'est-à-dire, le rapport de l'intensité du rayonnement transmise à celle du rayonnement incident. Tandis que l'absorbance (A) est définie comme étant le logarithme décimal de l'inverse de la transmittance (T) [80].

Le calcul du spectre dans le domaine des fréquences IR à partir des données obtenues, par transformée de Fourier, permet d'accéder avec une grande précision aux différentes informations concernant soit la structure soit la concentration de la molécule.



**Mise en œuvre expérimentale**

---

## II. Chapitre 02 : Matériels et méthodes

### Introduction

Avec le développement du processus pharmaceutique, des études ont abouti à des remèdes qui diminuent certaines maladies infectieuses.

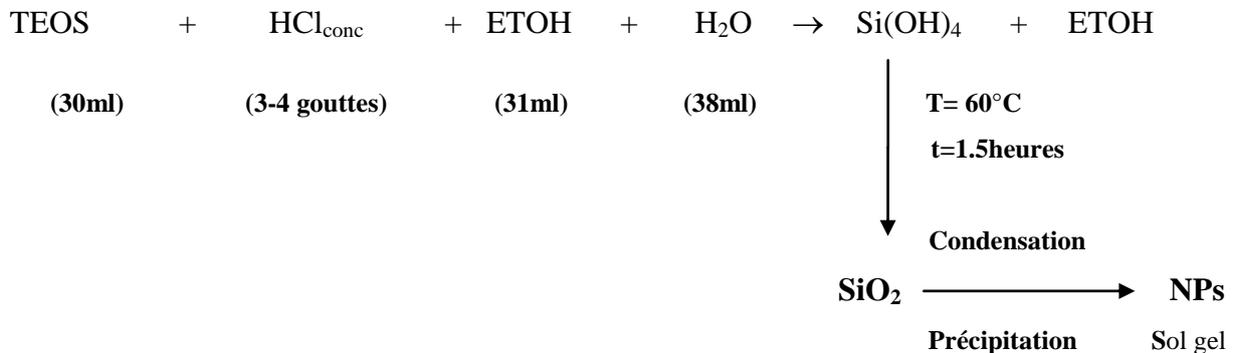
Dans ce chapitre, nous allons résumer les protocoles analytiques, suivis ainsi que le matériel utilisé durant la partie pratique de ce mémoire.

### II-1. Préparation du complexe antibactérien (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC)

La méthode de préparation a été réalisée conformément aux protocoles expérimentaux énoncés dans la littérature [88, 89, 90, 91], dont les étapes du schéma du procédé est représenté par la (figure II-1).

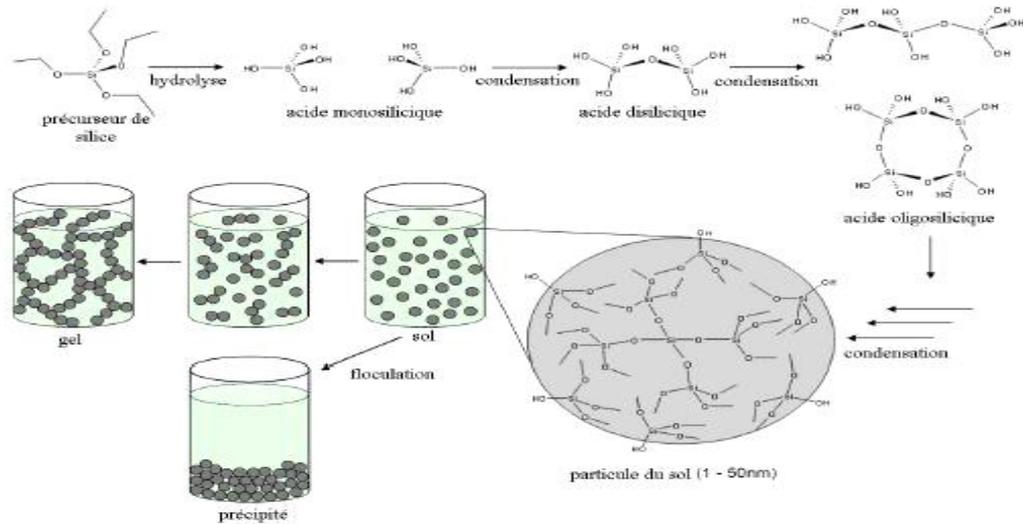
#### II-1-1. Préparation du sol gel par hydrolyse acide du TEOS [88]

Selon le schéma réactionnel qui suit : **TEOS/ETOH/H<sub>2</sub>O** dans des proportions molaires (1/4/16) :



Le schéma réactionnel global est :





**Figure II.1** Représentation schématique d'un processus sol-gel à partir d'un alcooxysilane [88].

### II-1-1-1. Matériels et réactifs

#### -Matériels

- Ballon de 250 ml à 2 cols
- un réfrigérant
- thermomètre
- bain-marie
- plaque chauffante avec agitation magnétique
- éprouvettes graduées de 100 cm<sup>3</sup>
- barreau magnétique
- papier film
- pissette

#### -Réactifs mis en œuvre

- TEOS
- éthanol
- Eau bidistillée
- acide chlorhydrique

### II-1-1-2. Protocole expérimental

Dans un ballon de 250 ml, à 2 cols surmonté d'un réfrigérant, et munit d'un thermomètre, le tout est disposé dans un bain-marie et placé sur une plaque chauffante avec agitation magnétique modérée introduire les réactifs suivants :

- un volume de 30ml de TEOS
- prélever un volume de 31ml d'éthanol
- ajouter le volume dans le ballon contenant le TEOS sous agitation continue
- prélever un volume de 38 ml d'eau bidistillée
- acidifier cette eau avec 3 à 4 gouttes de HCl concentré
- Cette solution aqueuse acidifiée est mélangée à la précédente solution de TEOS/ETOH, sous agitation magnétique pendant quelques minutes, pour homogénéiser la solution qui est trouble au départ, puis tend à devenir homogène au bout de quelques minutes d'agitation continue.
- Portez le mélange à 60°C pendant 1,5 heure (1h et 30mn) en maintenant l'agitation durant le chauffage.
- arrêter le chauffage pour permettre à la solution de refroidir et de revenir à la température ambiante et cela de 2 à 5 jours.



**Figure II-2.** Dispositif expérimental utilisé pour la préparation du sol-gel

- **Observation**

Lors de la préparation du sol gel, après avoir introduit tout les constituants (TEOS, ETOH, eau bidistillée acidifiée avec du HCL), on remarque que la solution est trouble au départ, puis tend à devenir homogène au bout de **2 min** sous une agitation continue.

- **Explication**

✓ La solution de couleur trouble au départ, due à un mélange des deux solutions (TEOS/ETOH et eau acidifiée), qui sont au commencement non miscibles mais après un temps d'agitation on obtient une solution homogène.

✓ L'utilisation du catalyseur HCl sert à activé la réaction. Ceci se traduit par des vitesses de réaction et de gélification du sol-gel.

✓ La réaction d'hydrolyse se produit quand le TEOS et l'eau sont mélangés avec un solvant mutuel éthanol, les intermédiaires qui sont produits incluent les groupes **Si-OH**, qui s'appelle : les silanols, l'hydrolyse complète donnerait l'acide silicique, mais ceci ne se produit pas. Au lieu de cela la condensation peut se produire entre deux silanols, ou un silanol et un groupe d'éthoxy pour former un **oxygène traversier [88]** ou un groupe **Si-O-Si** de siloxane on élimine l'eau ou l'éthanol.

✓ Il faut noter que le TEOS et l'eau ne sont pas miscibles, toutefois, bien qu'il soit courant d'employer un solvant commun, un alcool par exemple, afin de rendre les réactions d'hydrolyse-condensation plus rapides, ce n'est pas une condition obligatoire dans la mesure où l'alcool, issu de l'hydrolyse du TEOS, est suffisant pour homogénéiser l'ensemble.

## **II-1-2. Formulation des nanoparticules de complexes de (TEOS- Ag<sup>+</sup> - HPMC)**

### **II-1-2-1. Matériels et réactifs**

#### **-Matériels**

- verres de montre
- spatule
- erlens
- poire
- pipette de 10 ml
- pissette
- balance analytique (DENVER I strument)

- papier film
- plaque chauffante (AGITATOR MAGNETIQUE RS-1 )
- thermomètre
- barreau magnétique
- étuve

#### - Réactifs

- gel de silice (sol-gel)
- $\text{AgNO}_3$
- HPMC

#### II-1-2-2. Protocole expérimental

Le principe consiste à formuler des nanoparticules de complexes clusters de (TEOS- $\text{Ag}^+$ -HPMC) (schéma de la **figure II-3**) et pour cela nous avons suivi les trois étapes suivantes :

##### II-1-2-2-1. Détermination de la masse de sol-gel à partir d'un volume précis

- Peser 07 erlens vides et numérotés de 01 à 07
- Pipeter 10 ml du sol-gel déjà préparé pour chacun des erlens
- Peser les erlens avec le sol- gel
- Recouvrir les erlens avec du papier film pour éviter toutes contaminations
- Déterminer les différentes masses du sol-gel

Les masses trouvées sont portées dans le **tableau II-1**

**Tableau II-1.** Volumes et mases de sol gel de TEOS hydrolysé

N° Erlen	Volume sol (ml)	Masse sol (g)
01	10	9.4435
02	10	9.4282
03	10	9.4229
04	10	9.4020
05	10	9.3961
06	10	9.4079
07	10	9.4676

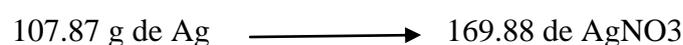
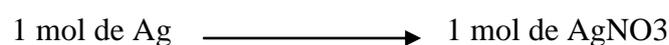
### II-1-2-2-2. Calculs préliminaires pour la préparation du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup> (NPs complexes)

- Calculer les masses de AgNO<sub>3</sub> pour différents pourcentages en masse de Ag

$$M_{\text{Ag}} = 107.87 \text{ g/mol}$$

$$M_{\text{AgNO}_3} = 169.88 \text{ g/mol}$$

$$\text{Pureté de AgNO}_3 \text{ (utiliser)} = 99.92\%$$



#### -Calcul de la masse de AgNO<sub>3</sub> pour différents % en masse de Ag

Pourcentage en masse de Ag est (0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%)

##### -Pour 0.5 % de Ag

$$V_{\text{sol-gel}} = 10 \text{ ml} \longrightarrow m_{\text{sol-gel}} = 9.4282 \text{ g}$$

$$100\% \text{ de Ag} \longrightarrow 9.4282$$

$$0.5\% \text{ de Ag} \longrightarrow m_{\text{Ag}} = ?$$

$$m_{\text{Ag}} = (0.5 * 9.4282) / 100$$

$$m_{\text{Ag}} = 0.0471 \text{ g}$$

##### -Pour déterminer la masse de AgNO<sub>3</sub> :

$$m_{\text{AgNO}_3} = (m_{\text{Ag}} * 169.88) / 107.87$$

$$m_{\text{AgNO}_3} = (0.0471 * 169.88) / 107.87$$

$$m_{\text{AgNO}_3} = 0.0742 \text{ g (pur à 100 \%)}$$

$$0.0742 \text{ g} \longrightarrow 99.92 \%$$

$$m_{\text{AgNO}_3} = ? \longrightarrow 100 \%$$

$$m_{\text{AgNO}_3} = (0.0742 * 100) / 99.92$$

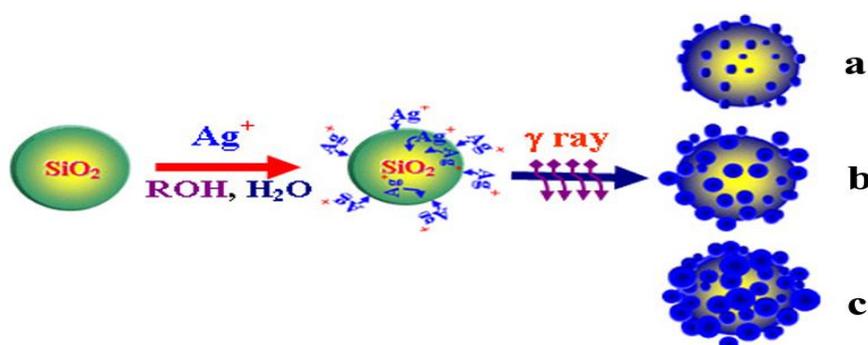
$$\boxed{m_{\text{AgNO}_3} = 0.0743 \text{ g}}$$

Les masses déterminées sont portées sur le (tableau II-2)

##### -Protocole expérimental de la complexation

- Pour les autres pourcentages en masse de Ag, pour calculer les masses de AgNO<sub>3</sub> on suit les mêmes étapes

- Peser les différentes masses trouvées après calcul
- Les introduire dans des erlens numérotés de 01 à 07 remplis avec 10 ml de sol-gel
- Les recouvrir toujours avec du papier film
- Mettre sur la plaque chauffante pour une température de 50°C et une agitation modérée
- Laisser sur la plaque pendant 02 heures
- Vérifier la température pour ne pas dépasser les 50°C
- Compter le temps à partir du moment où la température atteint les 50°C



**Figure II-3.** Structure de complexe TEOS-Ag<sup>+</sup> (NPs de clusters)

(**A, b, c** : les différentes tailles de nanoparticules de Ag<sup>+</sup>)

Les masses de AgNO<sub>3</sub> sont notées dans le (**tableau II-2**) suivant :

**Tableau II-2.** Pourcentages de Ag et masses de AgNO<sub>3</sub>

Formulation	Ag(%)	m <sub>0Ag</sub>	m AgNO <sub>3</sub>	Masse sol (g)
01	0.5	0.0471	0.0743	9.4435
02	0.5	0.0471	0.07426	9.4282
03	1	0.0942	0.1482	9.4229
04	1.5	0.1410	0.2220	9.4020
05	2	0.1879	0.2965	9.3961
06	2.5	0.2352	0.3730	9.4079

- **Observations**

Après avoir dispersé la prise d'essai de  $\text{AgNO}_3$  (les masses pesée pour différente % en masse de Ag [0.5%, 1%, 1.5% ,2% ,2.5%]) on remarque :

- ✓ la dispersion de  $\text{AgNO}_3$  nous donne une apparition d'une couleur blanche.
- ✓ l'agitation et le chauffage mènent a l'apparition des particules de petite taille (précipités), parfois de taille un peu plus développée.

- **explication**

- ✓ La couleur blanche début d'apparition des Nps de Ag, les atomes de Ag entoure la molécule de  $\text{SiO}_2$

- ✓ Après l'agitation : les Nps seront bien formé, les atomes de Ag seront greffés par les molécules de  $\text{SiO}_2$  du TEOS, formant des sphères de taille nanométrique pour ciblé les cellules infecté de cette taille.

### II-1-2-2-3. Complexe TEOS - $\text{Ag}^+$ - HPMC (Nps )

#### -Calcul des différentes masses d'HPMC

#### -Pour 0.5% de Ag et 5% d'HPMC

$$\begin{array}{l} 100 \% \longrightarrow m_{\text{sol-gel}} \\ 100\% \longrightarrow 9.4282 \text{ g} \\ 5\% \longrightarrow m_{\text{HPMC}} = ? \end{array}$$

$$m_{\text{HPMC}} = (5 * 9.4282) / 100$$

$$\boxed{m_{\text{HPMC}} = 0.4714 \text{ g}}$$

Même procédure pour les autres pourcentages de Ag

- Dissoudre ces masses dans 10 ml d'eau bidistillée
- Introduire ce dernier au complexe TEOS- $\text{Ag}^+$
- Remettre sur la plaque chauffante avec une agitation modérée et une température de  $50^\circ\text{C}$  pour  $t = 1$  heure
- Compter le temps à partir du moment où la température atteint les  $50^\circ$

Les valeurs trouvées sont porté dans le tableau suivant

**Tableau II-3.** Différentes formulations des nanoparticules des complexes de (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC)

HPMC(%)	5						
Formulation	01	02	03	04	05	06	07
m HPMC (g)	0.4721	0.4714	0.4711	0.4701	0.4698	0.4704	0.4734

### Remarque

l'ajout du HPMC dissout dans l'eau nous a donné l'apparition d'une couleur bleu violet

Pour les mêmes pourcentages en masse de AgNO<sub>3</sub> (0.5%, 1%, 1.5%, 2%, 2.5%) et pour un pourcentage en masse d'HPMC de (2.5%) nous avons suivi les mêmes procédures précédentes qui sont :

#### 1/ préparation du sol-gel

#### 2/Complexe TEOS-Ag<sup>+</sup> (NPs de cluster)

#### 3/ Complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC (NPs de cluster)

Les résultats sont portés dans le **tableau II-4** récapitulatif représenté dans la page suivante

### II-2. La séparation par centrifugation des complexes nanoparticules TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC :

Cette étape préliminaire est destinée pour préparer les nanoparticules à la caractérisation par les techniques d'analyse DRX, IR pour les poudres, et les surnageants seront analysés par UV-visible pour quantifier à la fois l'argent résiduel en solution, et la teneur en Ag<sup>+</sup> dans le complexe ainsi que la détermination du taux de complexation de Ag<sup>+</sup> dans les nanoparticules.

Tableau II-4. Les pourcentages, masses et volumes d'AgNO<sub>3</sub> d'HPMC des formulations

formulations	% HPMC	V <sub>sol-gel</sub> (ml)	m <sub>sol-gel</sub> (g)	% Ag	m <sub>AgNO<sub>3</sub></sub> (g)	m <sub>HPMC</sub> (g)	heure	T (C°)
Blanc	5 %	10	9.4435	00	00	0.4721	2	60
01		10	9.4282	0.5	0.0742	0.4714	2	60
02		10	9.4229	0.5	0.0742	0.4711	2	60
03		10	9.4020	1	0.1482	0.4701	2	60
04		10	9.3961	1.5	0.2220	0.4698	2	60
05		10	9.4079	2	0.2965	0.4704	2	60
06		10	9.4676	2.5	0.3730	0.4734	2	60
Blanc	2.5 %	10	9.4415	00	00	0.2360	2	60
01		10	9.4308	0.5	0.0743	0.2357	2	60
02		10	9.4339	1	0.1486	0.2358	2	60
03		10	9.4379	1.5	0.2230	0.2359	2	60
04		10	9.4421	2	0.2975	0.2360	2	60
05		10	9.4432	2.5	0.3721	0.2361	2	60

### II-2-1. Matériels et solution

#### ✓ Matériels

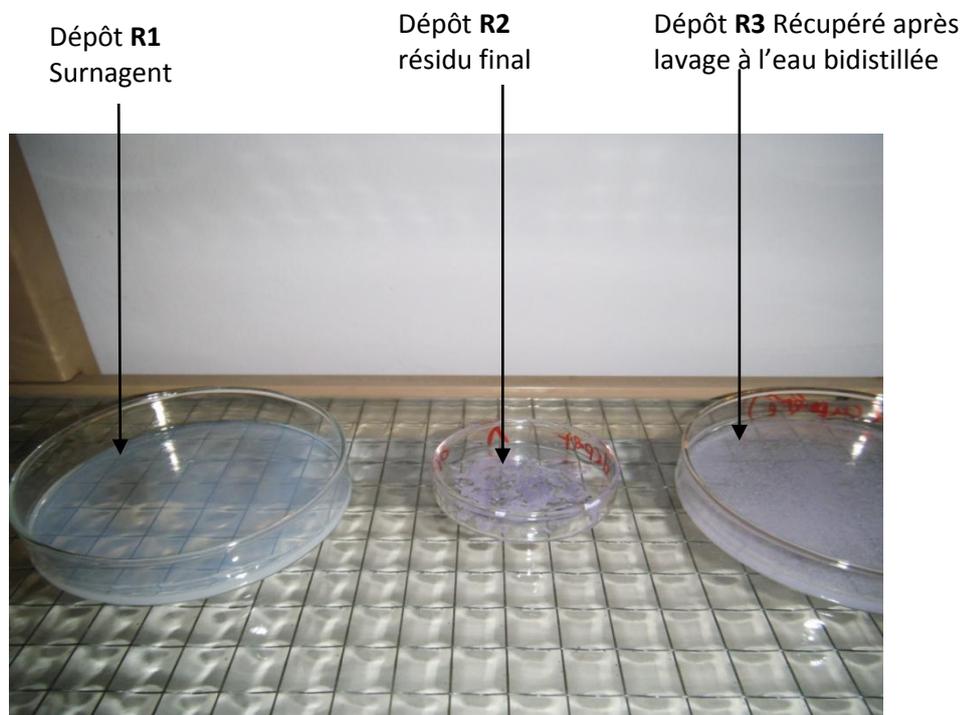
- Centrifugeuse (EPA 20 ZENTRIFUGEN)
- Des tubes spéciaux pour la centrifugation
- Poire
- Pipette de 1 ml
- Boîtes à Pétri
- Balance analytique (DENVER Instrument)
- Spatule
- Papier film
- Pissette

#### ✓ Solutions

- Solution de la formulation du complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC)
- Eau distillé

### II-2-2. Protocole expérimentale de la séparation et de prélèvement des échantillons

- Verser le Complexe (TEOS- Ag<sup>+</sup>- HPMC) dans des tubes de centrifugation
- placer ces derniers dans la centrifugeuse d'une façon transposée
- centrifuger pour un temps d'une heure et un réglage de 6000 tours/minutes jusqu'à une centrifugation complète (1 heure).
- Pipeter doucement le surnageant et le transvaser dans un tube à essai propre et sec, reboucher et conserver à l'abri de la lumière (recouvert de papier aluminium).
- préparer une série de boîtes de Pétri propres et sèches, et stérilisées au préalable par autoclavage dans un autoclave à T=120°C pendant 20mn, ou bien dans une étuve portée à T=110°C pendant 2 heures.
- peser les boîtes à Pétri et prendre leurs masses.
- verser la partie trouble du centrifugat dans une boîte de Pétri et préserver de toute contamination infectieuse pour le séchage (évaporation de l'eau à Tamb.)
- Dans une autre boîte de Pétri, transvaser le résidu de fond du tube de centrifugation et laisser sécher recouvert du papier film perforé, pendant quelques jours à Tamb.



**Figure II-4.** Procédure du séchage après séparation

### II-3. Caractérisation structurale des nanoparticules du complexe antibactérien (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC) :

#### II-3-1. Spectroscopie à diffraction par rayon X (DRX)

##### -Matériels et réactifs

La diffraction des rayons X (DRX) a été utilisée pour étudier la cristallinité des complexes de Nps obtenus et détecter éventuellement les changements par rapport aux réactifs de départ.

Les mesures ont été réalisées par un Diffractomètre de poudre de marque PANanalytical avec un rayonnement de RX de longueur d'onde de la raie de  $\text{Cu}_{K\alpha 1} = 1,54\text{\AA}$ . Les échantillons sont directement analysés par l'appareil en balayant des angles  $2\theta$  entre 0 et 80°.

- Complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC poudre (après avoir broyé toute la formulation séparé)
  - ✓ Produit récupéré du surnageant trouble,
  - ✓ Dépôt du résidu de Nps,
  - ✓ dépôt récupéré après lavage
- HPMC
- $\text{AgNO}_3$

#### II-3-2. Spectroscopie Infrarouge :

- **principe**

L'analyse a été réalisée avec la méthode de préparation des échantillons en pastille de KBr. La poudre de l'échantillon à analyser (2 mg) est mélangé avec du KBr (80 mg), le tout est broyé dans un mortier en acier, puis comprimé sous pression réduite (90 kN), pour former de fines pastilles. Cette dernière est positionnée dans un porte échantillon qui est introduit dans la chambre de l'analyse infrarouge. Les spectres IR correspondant aux différents échantillons sont enregistrés dans le domaine de vibration des liaisons des molécules compris entre 4000  $\text{cm}^{-1}$  et 400  $\text{cm}^{-1}$ .

##### -matériel et réactifs

- Etuve (Memert)
- Complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC
- Spatule
- Ethanol

- Quelques milligrammes de complexe (TEOS-Ag+-HPMC) des formulations obtenues avec chacune des méthodes citées précédemment
- Quelques milligrammes de KBr (BIOCHEM Pharma)
- Balance analytique (DENVER Instrument)
- Presse hydraulique pour pastille pour l'analyse infrarouge (SHIMADZU)
- Spectrophotométrie Infrarouge (IRAffinity-1 SHIMADZU)

#### II-4. Analyse qualitative et quantitative de Ag<sup>+</sup>, par spectrophotométrie UV-Visible

Cette méthode a été appliquée pour caractériser l'absorption des cations de Ag<sup>+</sup> par UV-visible, et doser l'argent dans les surnageants, afin de mieux préciser la meilleure méthode et la plus précise pour le dosage de l'argent.

##### II-4-1. Matériels et réactifs

###### - matériels

- Cuves
- Papier absorbant
- Tubes à essai
- Poire
- Pipettes
- Pissette
- Papier film
- Spectrophotomètre UV-Visible (BIOTECH engineering)

###### - Réactifs

- TEOS pure
- Sol gel
- AgNO<sub>3</sub>
- Eau bidistillée
- échantillon de complexe de nanoparticules (TEOS-Ag+-HPMC)

##### II-4-2. Analyse

### II-4-2-1. Aspect qualitatif

- ✓ tracer le spectre UV du TEOS pure par balayage des longueurs d'onde comprises entre 190 nm et 400nm.
- ✓ tracer le spectre UV pour le sol-gel pur par balayage entre 190 nm et 400 nm
- ✓ tracer le spectre UV de l'étalon le plus concentré

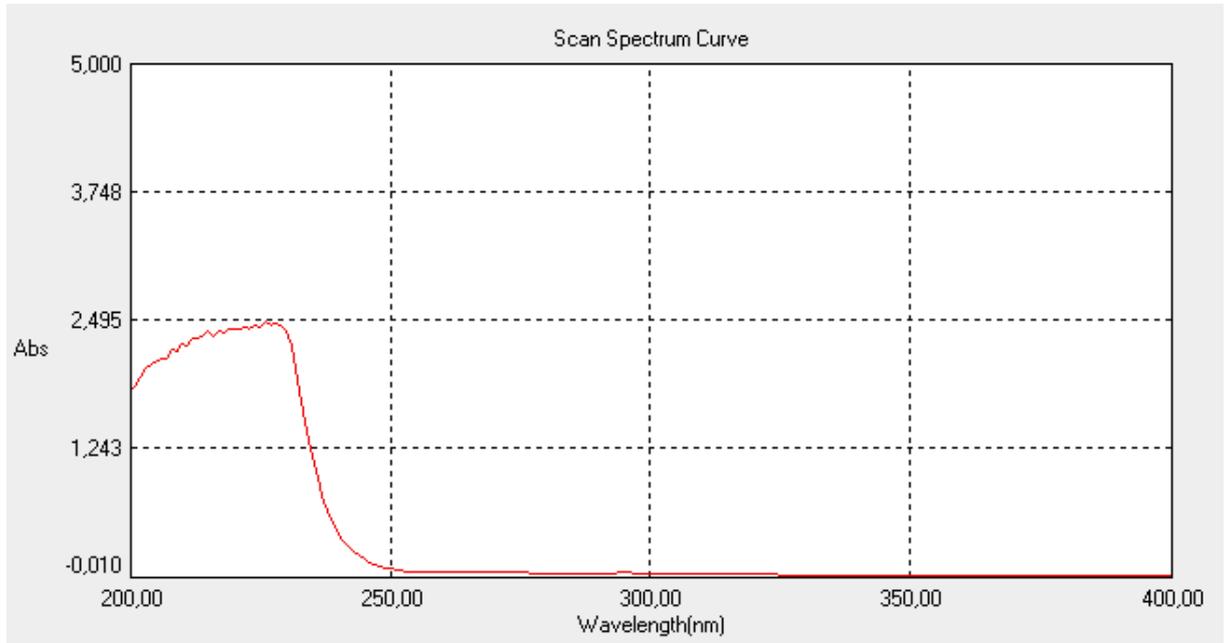


Figure II-6. Spectre UV de l'étalon le plus concentré de Ag (5mg/l)

### II-4-2-2 Aspect quantitatif et courbe d'étalonnage

#### A-Préparation des étalons

- préparer une solution standard de  $\text{AgNO}_3$  dans l'eau bidistillée à une concentration de 10 mg/l
- préparer des étalons à partir de la solution standard ( $C= 10 \text{ mg/l}$ ) pour des concentrations données dans le tableau suivant.
- calculer le volume pour chacune des concentrations données

$$C_1 * V_1 = C_2 * V_2$$

Tableau II-4. Les différentes concentrations des étalons de  $\text{Ag}^+$  par UV

N° Etalons	01	02	03	04	05
Standard à 10 mg/l	1	2	3	4	5
V (ml)					
Concentration (mg/l)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5

- ✓ Nous devons d'abord tracer le spectre d'absorption de la solution de l'étalon de  $\text{AgNO}_3$  le plus concentré par UV, pour déterminer la longueur d'onde maximale d'absorption de  $\text{Ag}^+$  par rapport au blanc (eau bidistillée).
- ✓ Puis nous mesurons les absorbances des étalons à la longueur d'onde maximale 214 nm.
- ✓ Ensuite nous traçons la courbe d'étalonnage  $\text{Abs} = f([\text{Ag}^+])$
- ✓ La courbe d'étalonnage est représentée ci-dessous :

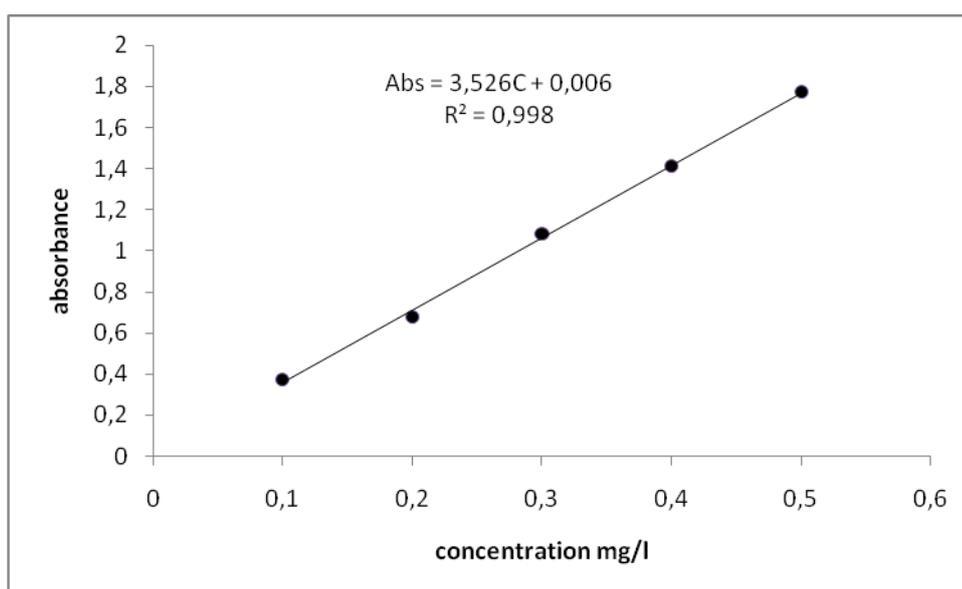
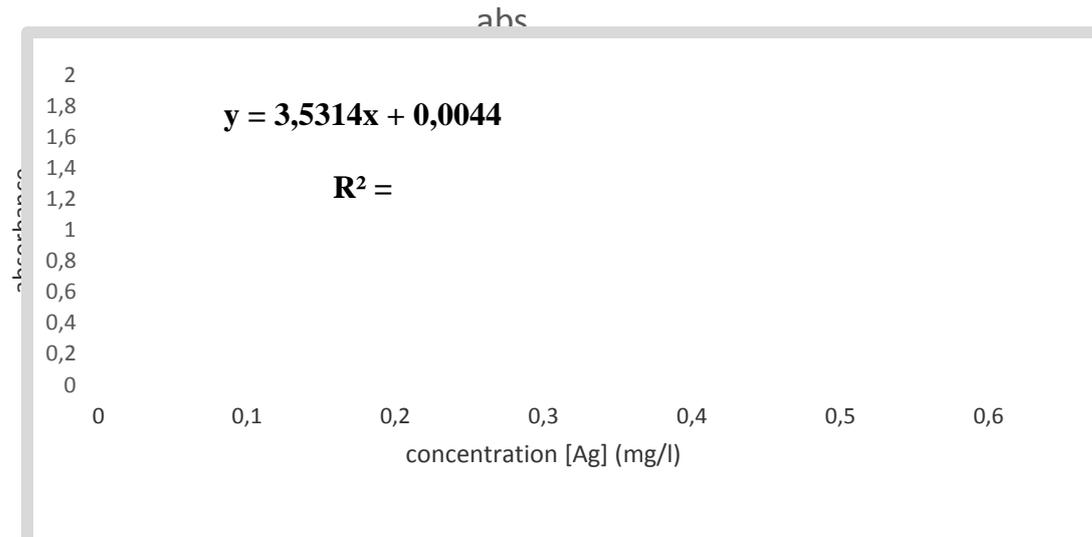


Figure II-7. La courbe d'étalonnage par UV de Ag

$$\boxed{\text{Abs} = K_1 * [\text{C}] + K_0}$$

### B- Analyse des surnageants

- diluer les surnageants avec un facteur de 200 fois dans des volumes de 10ml
- mesurer les absorbances des surnageants par UV à la longueur d'onde maximale 214 nm de l'absorption de  $\text{Ag}^+$ , par rapport à l'eau bidistillée, les valeurs sont comparées à celles des étalons pour déterminer les concentrations.(voir annexe 4 )



**Figure II-8.** Dosage de l'Ag dans la formulation à différentes composition

#### II-4-2-3. Exemple de calcul du taux de complexation pour les différentes formulations par UV:

- Pour 0.5 % d'Ag et 5% d'HPMC

$$m_0^{0.5} = 47.10 \text{ mg} \xrightarrow{\text{dans}} 20 \text{ ml}$$

$$C_0^{0.5} ? \xrightarrow{\text{Dans}} 10^3 \text{ ml} = 1\text{L}$$

$$C_0^{0.5} = (47.10 * 10^3) / 20$$

$$\boxed{C_0^{0.5} = 2355 \text{ mg/l}}$$

$C_f^{0.5}$  concentration finale déterminé par UV

$$\boxed{C_{\text{NPs}} = C_0 - C_f}$$

$$C_{\text{NPs}}^{0.5} = C_0^{0.5} - C_f^{0.5}$$

$$C_{\text{NPs}}^{0.5} = 2355 - 290.07$$

$$C_{\text{NPs}}^{0.5} = 2064.93 \text{ mg/l}$$

### % Complexations

Le taux de complexation est calculé comme suit :

$$\text{Comp \%} = (C_{\text{NPs}} / C_0) * 100$$

$$\text{Comp}^{0.5\%} = (C_{\text{NPs}}^{0.5} / C_0) * 1000$$

$$\text{Comp}^{0.5\%} = (2064.93 / 2355) * 100$$

$$\text{Comp}^{0.5\%} = 87.68 \%$$

Pareil pour les autres formulations

## II-5. Mise en évidence de l'activité antibactérienne

Les suspensions du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC synthétisé, sont testées pour leur action antibactérienne vis-à-vis de la souche *Escherichia coli* (bactérie à gram négatif).

Cette étude est réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie (sous la direction du professeur A.Aziz Touati), de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Bejaia

### II-5-1. Matériel et méthode

#### - matériel utilisés

- Becs bensen
- Des allumettes
- Boîtes à Pétri (verre et plastique)
- Vortex
- Ecouvillon
- Disques antibiotiques
- Once de platine
- Pince
- Micropipette
- Embouts
- Papier film

**-milieux de culture et souches bactériennes**

- Bouillon nutritif
- Muller Hinton
- Eau physiologique stérile
- Suspension bactérienne de la souche *Escherichia-coli*

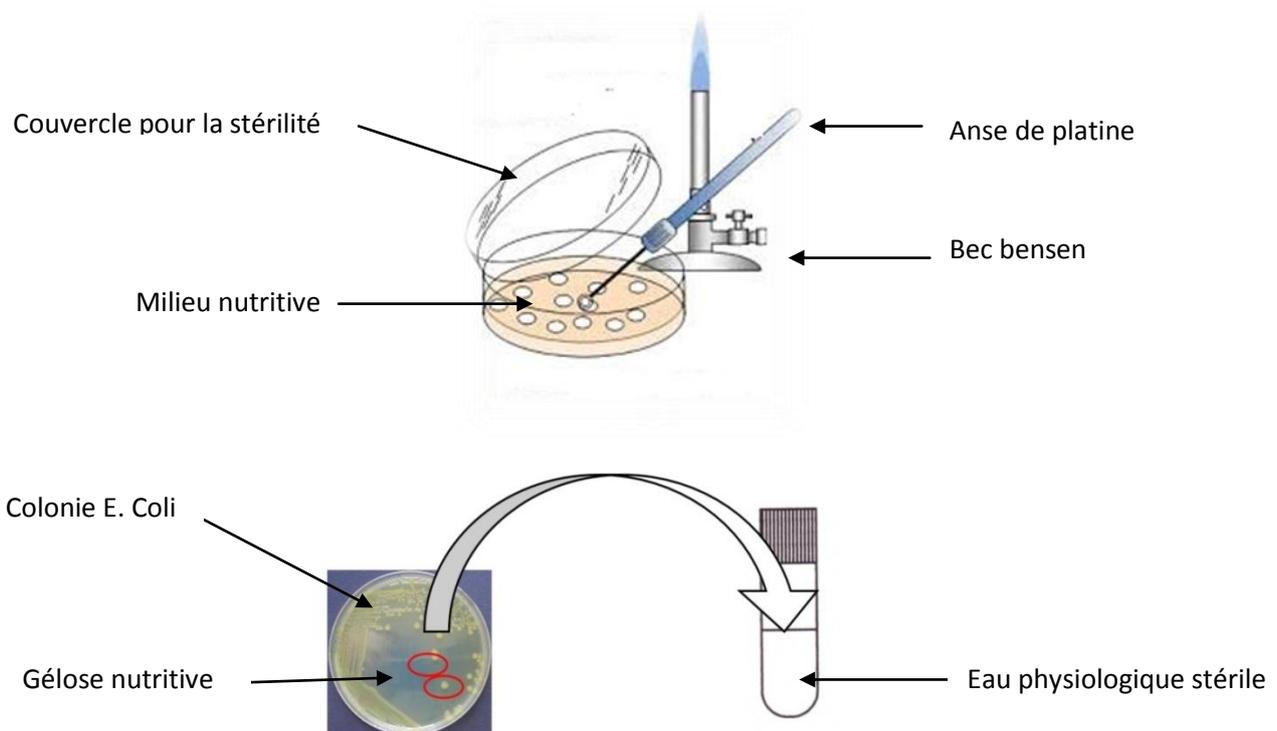
**II-5-2. Test anti-bactérien****II-5-2-1. Préparation de la suspension bactérienne**

À partir d'une pré-culture âgée de 24 heures, ensemencée sur une gélose nutritive :

-Prélever 3 à 4 cellules bien isolées avec une anse de platine déjà stérilisée sur la flamme du bec bensen le teste est répété 02 fois

-Les émulsionner dans un tube contenant 03 ml de eau physiologique stérile comme l'indique les figures suivantes :

-Prélèvement des colonies *E. Coli*



**Figure II-9.** Préparation de suspension bactérienne [92]

### -Ensemencement des souches

Avec un écouvillon, dans la zone de stérilisation (entre les deux becs bensen)

- Prélever de la suspension bactérienne
- déposer dans la boîte de Pétri (par la méthode d'écouvillonnage)

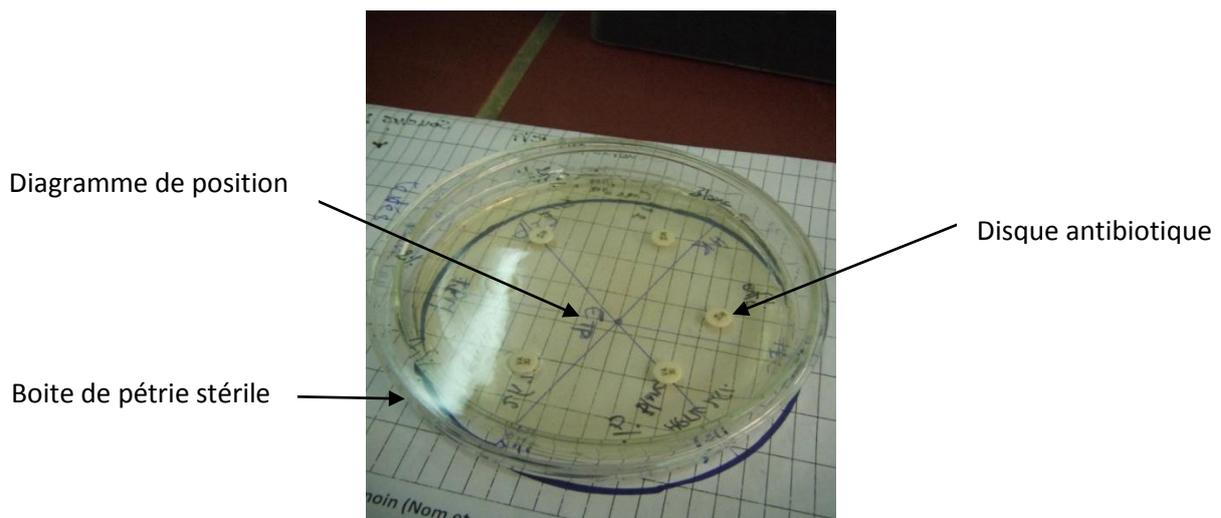
La suspension bactérienne est répandue sur toute la surface du milieu M.H (**Figure II-10**).



**Figure II-10** : Ensemencement des souches

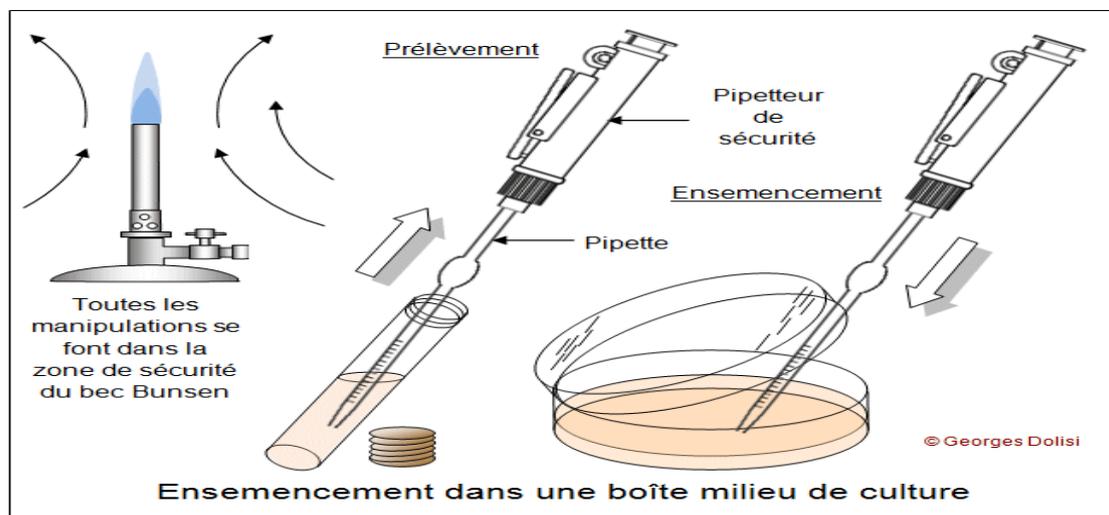
### II-5-2-2. Antibiogramme

La mise en évidence de l'activité antibactérienne de nos produits est effectuée par l'antibiogramme (**Figure II-11**). Dans cette technique, le milieu utilisé est celui de Muller-Hinton (milieu semi-solide  $16 \text{ g.L}^{-1}$  d'agar), qui une fois coulé dans des boîtes de Pétri (d'une épaisseur  $> 4 \text{ mm}$ ), est ensemencé avec la souche cible (*E. coli*) par écouvillonnage.



**Figure II-11.** : Antibiogramme montrant les disques en papier Whatman de référence disposés sur les différents points de dépôts des différentes formulations.

- Des puits de 6mm de diamètre sont réalisés à l'aide d'un emporte-pièce après l'avoir stérilisé, dans les boîtes de gélose à différents endroits, prévus pour les différentes formulations. Des disques d'antibiotiques vierges, qui constituent une référence pour l'activité, après solidification du milieu, sont disposés sur les différents points d'ensemencement des souches d'*E-coli*. Puis, nous appuyons sur les disques pour former un puits.
- Introduire un volume de 10  $\mu\text{L}$  ou de 25  $\mu\text{L}$  de chaque suspension des formulations antibactériennes (complexe de TEOS- $\text{Ag}^+$ -HPMC), par comparaison aux références des solutions de  $\text{Ag}^+$  et de HPMC seuls, séparément dans les puits (**figure II.12**).



**Figure II-12.** Dépôt des suspensions antibactériennes [93]

- incuber dans une étuve à 37°C / Pendant 24 heures

### Remarque

Toutes les manipulations sont faites dans une zone stérilisée au voisinage du bec bensen, boîtes de Pétri ouvertes le moins longtemps possible

- **Détermination du diamètre de la zone d'inhibition :**

Après incubation pendant 24h à 37°C, la présence de l'activité antibactérienne se manifeste par l'apparition de zone d'inhibitions. Nous mesurons avec une règle le diamètre de chacune des zones.



## **Résultats et discussions**

---

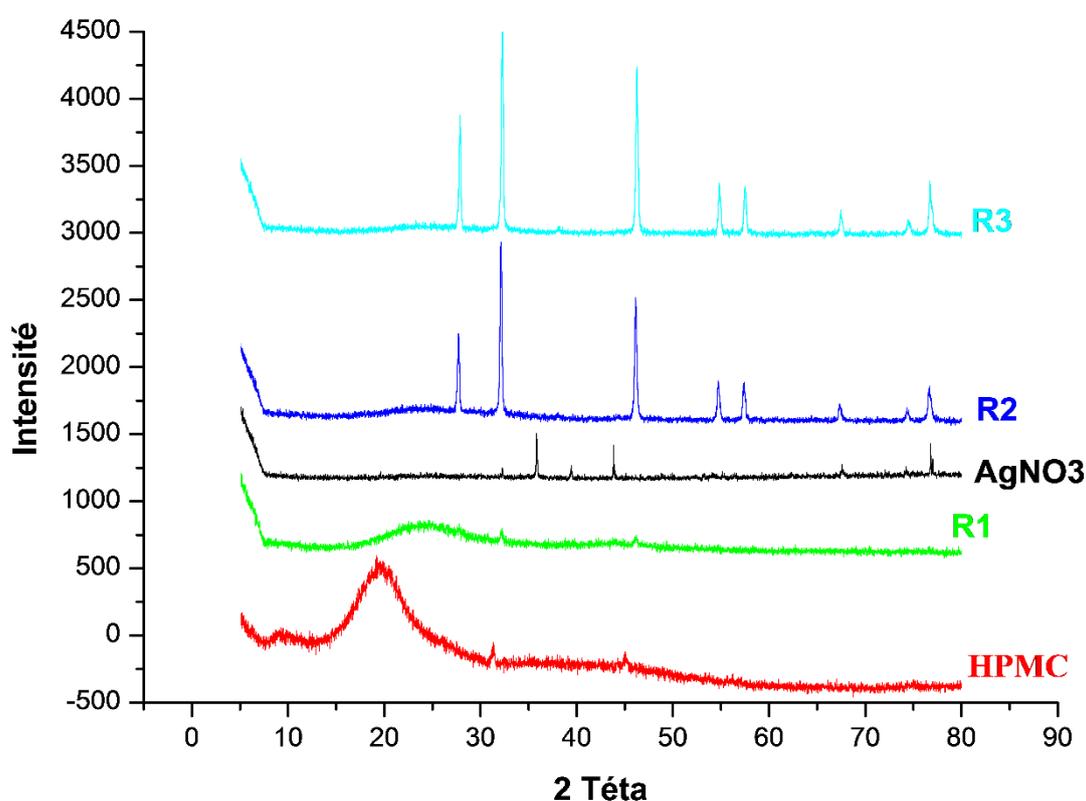
### III. Chapitre 03 : résultats et discussions

#### Partie A

#### III-1. Caractérisation structurale

##### III-1-1. Par Diffraction de rayon X (DRX)

Les diffractogrammes X représentant le complexe de nanoparticules de (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC) à 0.5%Ag et 5%HPMC et les références ont été regroupés dans la (figure III-1)



**Figure III-1.** Diffractogrammes X superposés de tous les échantillons de la formulation (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC) à 0,5% de Ag et 5% de HPMC, et des références.

#### -Interprétation :

##### ➤ Les références

- Le diffractogramme X de AgNO<sub>3</sub> présente une série de raies de diffraction fines à différents angles de diffraction  $2\theta = 32^\circ ; 35.84^\circ ; 43.81^\circ ; 76.80^\circ$ , correspondant au

plan de diffraction appartenant à une structure très cristallisée et bien ordonnée du système rhomboédrique ( $a=b=c$  ;  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ ).

- HPMC est semi-cristallin, caractérisé par deux raies larges et aplaties aux angles :  $2\theta = 10$  et  $19.16^\circ$ , relatifs aux plans (101) et (102) rappelant la structure connue de ce polymère. [94]

➤ **Le complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC) à 0.5% de Ag et 5% de HPMC (F01)**

- **Le résidu R1 séparé par centrifugation après précipitation dans le surnageant** a donné les raies de diffraction aux angles  $2\theta = 22.67^\circ$ , correspondant au déplacement du pic de  $19,16^\circ$  du HPMC au  $22.67^\circ$ , par association avec le TEOS en formant une liaison avec SiO<sub>2</sub>, ce qui met en évidence l'existence d'un hybride TEOS-HPMC. [95]. Pour ce résidu de précipitation de couleur blanche, il ne contient pas les cations d'argent, ou bien ceux-ci sont à l'état seulement de trace, recouvert par un film de HPMC (encapsulation des nanoparticules de TEOS-Ag<sup>+</sup>)
- **Dépôt (R2) du fond du tube après séchage** a donné les pics de diffraction aux angles  $2\theta = 27.72^\circ$  ;  $32.13^\circ$  ;  $46.13^\circ$  ;  $54.71^\circ$  ;  $57.41^\circ$  ;  $76.67^\circ$ .

L'apparition d'une nouvelle raie à  $27.72^\circ$  à un angle plus faible dans le complexe, signifie que la restructuration par complexation des cations Ag<sup>+</sup> rapproche les plans de diffraction par des forces d'attraction, induites d'une part entre Ag<sup>+</sup> et les oxygènes chargés négativement de l'organosilane, et d'autre part avec ceux des hydroxyles du HPMC.

L'intensification du pic à  $32.13^\circ$  plus faible dans AgNO<sub>3</sub>, est expliquée par le fait que des atomes d'oxygènes ou de silicium se retrouvent dans le même plan de diffraction relatif à cet angle de diffraction, par restructuration à l'échelle nanométrique du complexe.

Le décalage du précédent pic à  $43,81^\circ$  dans l'AgNO<sub>3</sub>, vers des angles plus élevés tel que  $2\theta = 46.13^\circ$  montre que les plans de diffraction détectés par cette raie s'éloignent entre eux, en formant une distance  $d_{hkl}$  interéticulaire plus élevée. Ce qui montre que les cristaux formant les particules du complexe subissent une croissance dans la direction orthogonale à ce plan de diffraction.

L'apparition de deux nouvelles raies de diffraction à des angles plus élevées,  $54.71^\circ$  et  $57.41^\circ$  pratiquement de mêmes intensités est relative à la structure de nanosphère attribuée au complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC).

- **Dépôt récupéré après lavage (R3) et séchage** a abouti aux raies de diffraction d'angles  $2\theta = 27.85^\circ$  ;  $32.26^\circ$  ;  $46.27^\circ$  ;  $54.82^\circ$  ;  $57.50^\circ$  ;  $67.47^\circ$  ;  $73.96^\circ$  ;  $76.73^\circ$

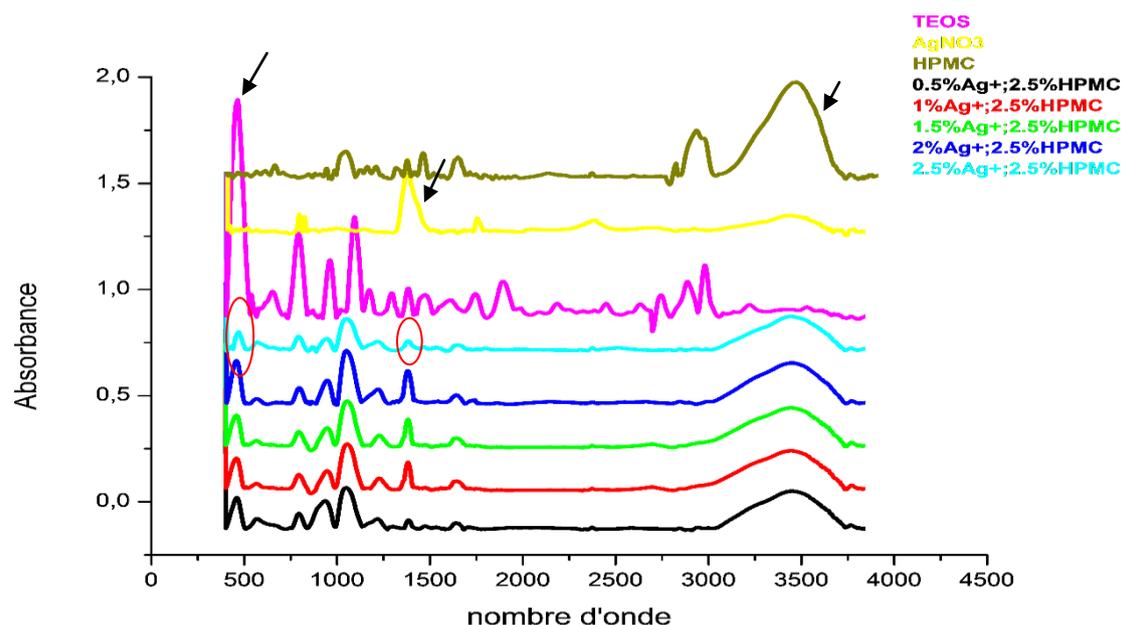
Nous retrouvons pratiquement les mêmes raies que pour le dépôt R2, ce qui signifie que R3 récupéré après une 2<sup>e</sup> centrifugation et lavage des cristaux sont de même nature et de même structure du complexe du dépôt R2.

### III-1-2.Caractérisation par IR

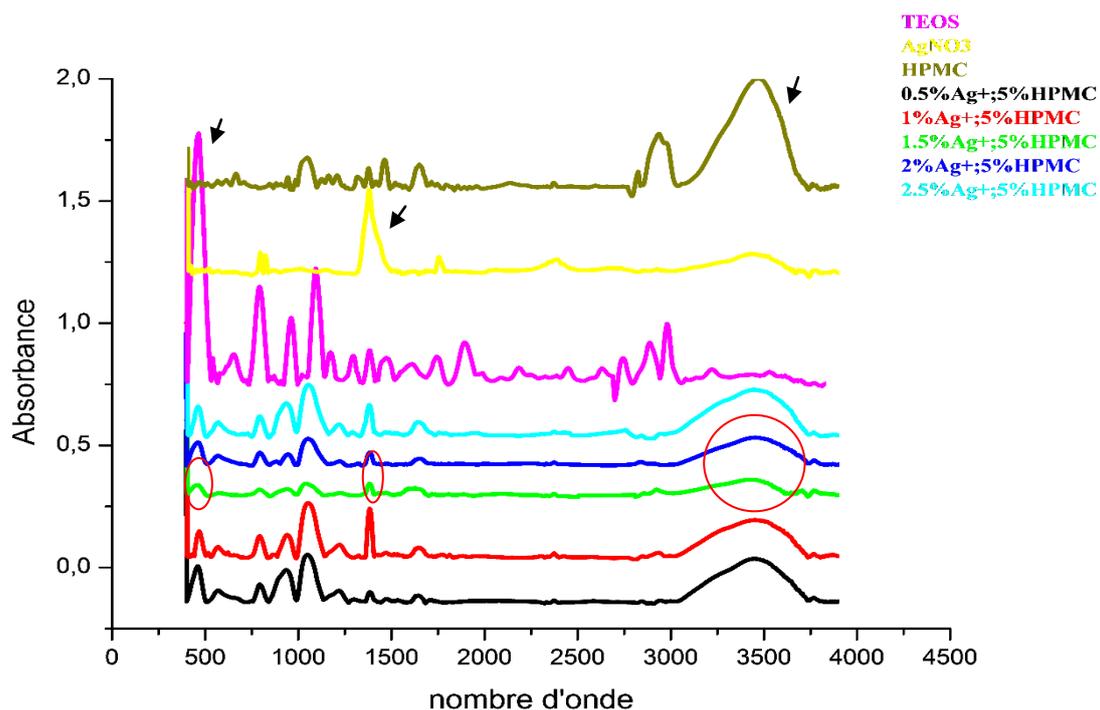
La représentation des résultats des différentes formulations à différentes compositions en Ag et en HPMC, ainsi que les matières premières utilisées, sont joint aux annexes.

Par contre, nous avons regroupé les différents spectres IR des formulations en comparaison avec les références dans les figures suivantes **Figure III-2** et **Figure III-3**, respectivement pour 2.5% et pour 5% de HPMC afin de mieux les comparer :

#### ➤ Pour les formulations de 2,5% HPMC



**Figure III-2.** Spectres IR regroupés des formulations des complexes avec 2,5% de HPMC et des réactifs de départ



**Figure III-3.** Spectres IR regroupés des formulations des complexes avec 5% de HPMC et des réactifs de départ

Dans le **tableau III-1** nous avons regroupé les bandes d'absorption IR les plus caractéristiques des liaisons et des groupements existants dans les composés.

**Tableau III-1.** Bandes d'absorption IR et liaisons chimiques

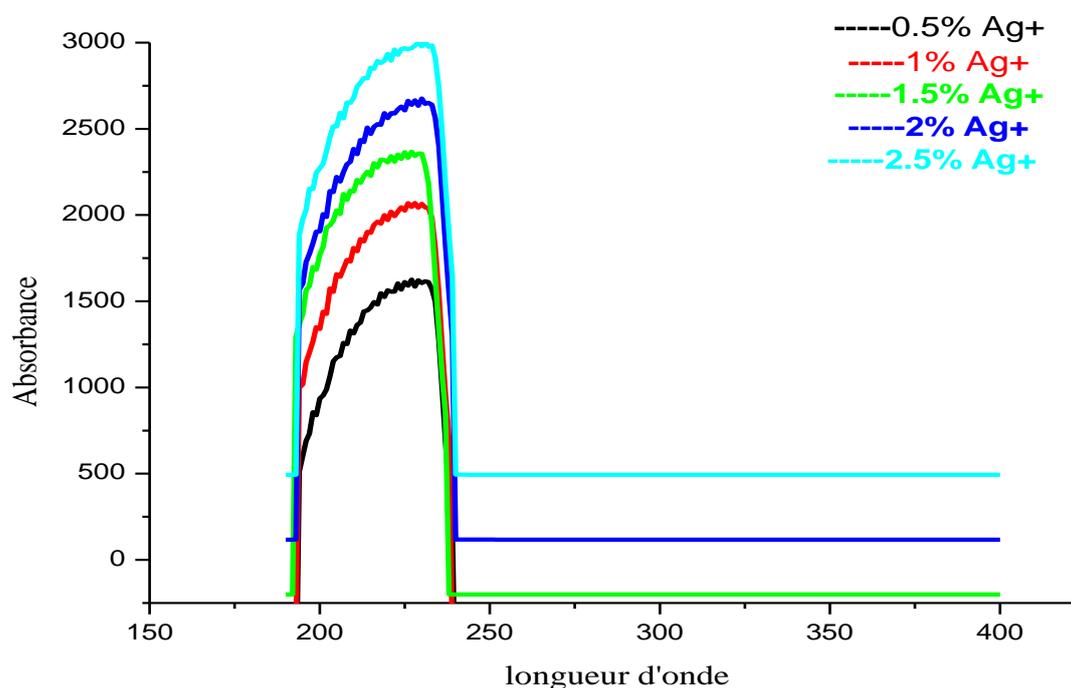
TEOS		AgNO <sub>3</sub>		HPMC		Complexe (TEOS-Ag <sup>+</sup> -HPMC)		
bande	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	bande	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	bande	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	2%Ag 2.5% HPMC	2% Ag 5% HPMC	bande
δ(Si-O) <sub>s</sub>	476.4	δ(N-O)	796.6	δ(CH)	665.4	476.4	472.6	δ(Si-O) <sub>s</sub>
δ(Si-O) <sub>as</sub>	792.7	ν(Ag-O)	1381	ν(C-O)	1049.3	570.9	570.9	δ(Si-O-Ag)
ν(Si-OH)	960.6	ν(N=O)	1755	δ(CH)	1463.8	796.6	794.7	δ(Si-O) <sub>as</sub>
ν(Si-O-Si)	1093.6	ν(OH)	3442.9	δ(OH)	1651.1	947	945.1	ν(Si-OH)
ν(C-O)	1294.2			ν(CH <sub>2</sub> )	2935.7	1049.3	1053.1	ν(Si-O-Ag)
δ(CH)	1473.6			ν(OH)	3475.7	1220.9		ν(Ag-O)
δ(OH)	1612.5					1381		
ν(CH) <sub>s</sub>	2887.4					1643.4	1383	ν(Ag-O)
ν(CH) <sub>as</sub>	2980					3446.8	1656.9	δ(OH)
							3454.5	ν(OH)

### -Interprétation

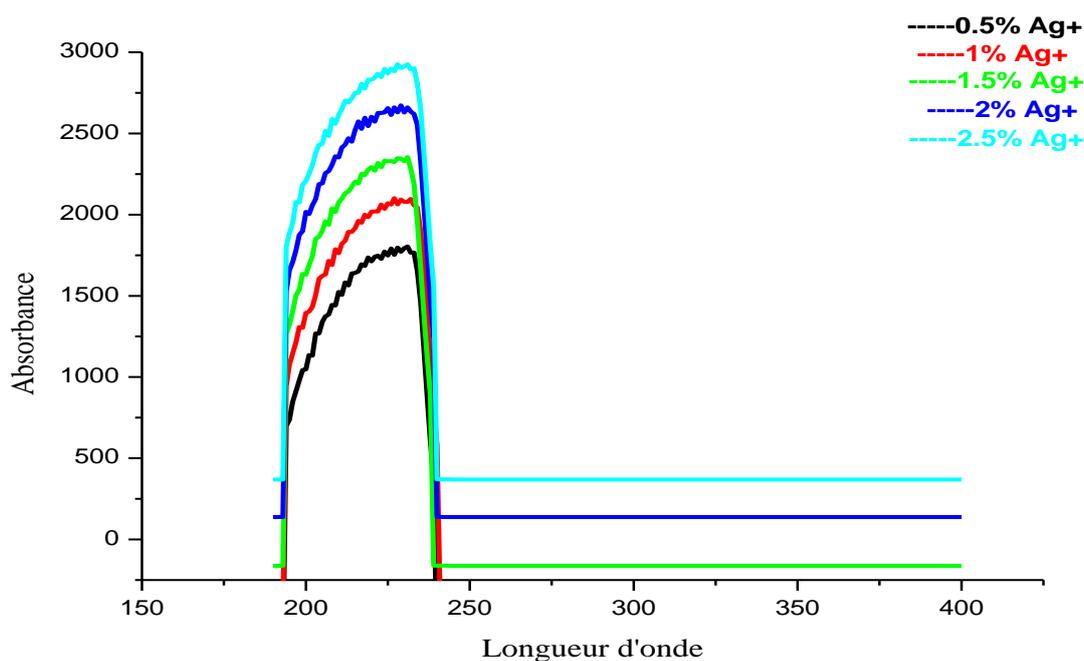
Nous retrouvons dans le spectre infrarouge du complexe certaines bandes spécifiques aux différents constituants seuls, le TEOS, AgNO<sub>3</sub> et HPMC, qui ont subi une diminution avec de légers décalages de nombres d'onde, et de nouvelles bandes telles que celles à 570.9 cm<sup>-1</sup> attribuée à la déformation  $\delta(\text{Si-O-Ag})$  et à 1049.3 ou à 1053.1 cm<sup>-1</sup> attribuée à l'élongation  $\nu(\text{Si-O-Ag})$ , montrant ainsi qu'il y'a création d'une nouvelle liaison entre le TEOS et les cations de Ag<sup>+</sup>. Ces liaisons peuvent également être associées soit par liaisons hydrogènes ou par liaisons dipolaires avec les groupements C-O ou OH du HPMC.

#### III-1-3. Caractérisation par l'UV

Les spectres des solutions des surnageants des différentes formulations, par comparaison avec les références, obtenus par balayage entre 190 nm et 400 nm sont représentés ci-après ( **figure III-4** et **figure III-5** respectivement pour 5% et pour 2,5% de HPMC).Les résultats des absorbances sont portés dans le **tableau III-1**.annexe.



**Figure III-4.** Spectres UV des surnageants des différentes formulations à 5% de HPMC des complexes TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC, en fonction du taux initial de Ag.



**Figure III-5.** Spectres UV des surnageants des formulations à 2.5% d'HPMC, des complexes de (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC), en fonction des taux initial de Ag.

### -Discussion

Nous remarquons une seule bande très intense attribuée à l'absorption des espèces de Ag<sup>+</sup> à l'état de complexe dissout dans l'eau. A longueur d'onde maximale se déplace de 227 nm à 231 nm relatif à un effet bathochrome, sous l'influence de l'augmentation du taux de Ag<sup>+</sup>.

### III-2. Détermination des taux de complexation de Ag dans les différentes formulations par UV

Dans le **tableau III-2**, nous avons regroupés les différents résultats du dosage de Ag<sup>+</sup> par UV dans les solutions des surnageants, pour déterminer la concentration et la masse de Ag complexé dans les nanoparticules des différentes formulations.

Les courbes de variation du taux de complexation en fonction du pourcentage initial de Ag pour 2,5% et 5% de Ag est représentée sur la **figure III-6**.

Tableau III-2. Taux de complexation de Ag dans les Nps des différentes formulations par UV

formulation	% HPMC	% Ag	C <sub>0</sub> (mg/l)	m <sub>0Ag</sub> (mg)	C <sub>f</sub> (mg/l)	m <sub>f</sub> (mg)	C <sub>NPs</sub> (mg/l)	(m <sub>Ag</sub> ) <sub>NPs</sub> (mg)	Comp %
01	5 %	0.5	3713	47.1	290	5.8	3423	41.3	87,68
02		1	7410	94.2	361	7.22	7049	86.98	92.33
03		1.5	11100	141.0	353	7.06	10747	133.94	94.99
04		2	14825	187.9	172	3.44	14628	184.46	98.17
05		2.5	18650	235.2	504	10.08	18146	225.12	95.71
01	2.5 %	0.5	3715	47.1	307	6.14	3408	40.96	86.96
02		1	7430	94.2	93	1.86	7337	92.34	98.03
03		1.5	11150	141.0	145	2.90	11005	138.1	97.94
04		2	14850	187.9	177	3.54	14673	184.36	98.12
05		2.5	18600	235.2	452	9.04	18148	226.16	96.16

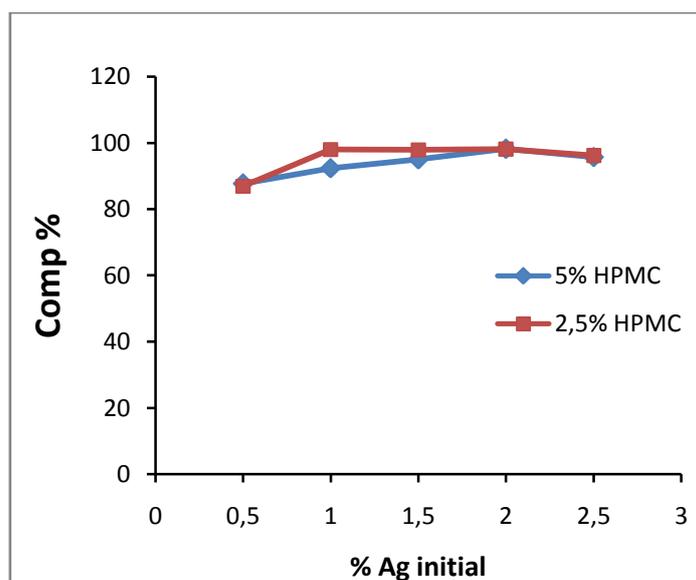


Figure III-6. Courbes de variation du taux de complexation de Ag dans les Nps, en fonction du pourcentage initial de Ag dans les formulations par UV

### -Discussion

Les taux de complexation sont très élevés, les valeurs minimales de l'ordre de 87.68% et 86.96% ont été obtenues pour 0.5% de Ag, tandis que les valeurs maximales d'environ 98.17% et 98.12% sont enregistrées pour 2% de Ag, respectivement pour 2.5% et 5% de HPMC.

Les valeurs varient peu en fonction du taux de HPMC. Ceci montre que l'encapsulation des nanoparticules de TEOS-Ag<sup>+</sup> par le HPMC, est plus influencée par le TEOS que par les cations de Ag<sup>+</sup>.

### III-3. Détermination de la masse des complexes et des teneurs en Ag des Nanoparticules (Nps)

Les résultats trouvés sont portés dans le **tableau III-3** suivant :

**Tableau III-3.** Les masses des résidus et des teneurs de Ag des Nps après séchage.

Formulation Après séchage	% HPMC	% Ag	Masse du dépôt (RES) (mg)	(m <sub>Ag</sub> ) <sub>NPs</sub> (mg)	Teneur en Ag <sup>+</sup> après séchage %
01	5 %	0.5	520.8	41.3	7.93
02		1	611.6	86.98	14.23
03		1.5	840.5	133.94	16.93
04		2	950.2	184.46	19.41
05		2.5	557.7	225.12	40.37
06	2.5 %	0.5	389.9	40.96	10.50
07		1	887.9	92.34	10.40
08		1.5	834.8	138.1	16.54
09		2	850.8	184.36	21.67
10		2.5	545.7	226.16	41.44

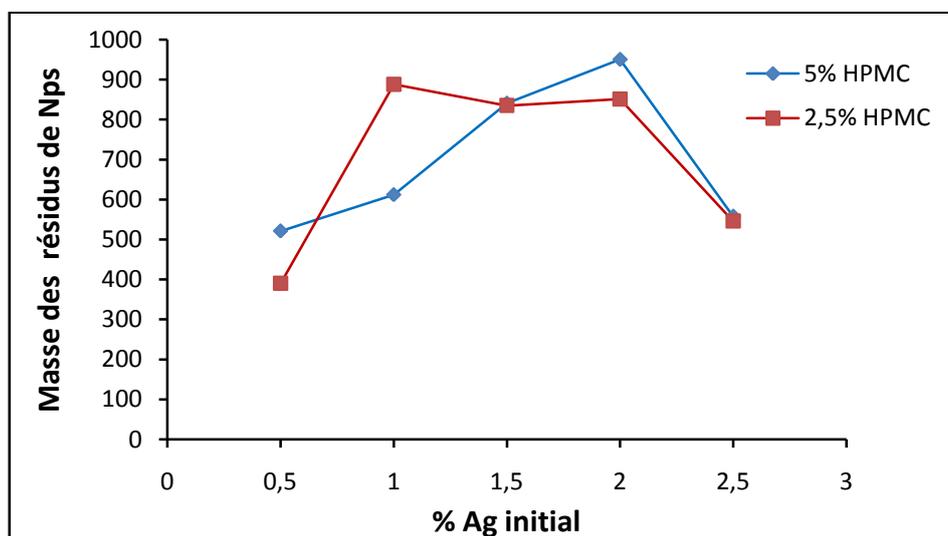
#### -Discussion

##### ➤ Variation de la masse du résidu des Nps en fonction du taux initial de Ag

Sur la **figure III-7**, nous montrons l'influence du taux initial de Ag ainsi que celui du HPMC, sur la variation des masses des résidus de Nps.

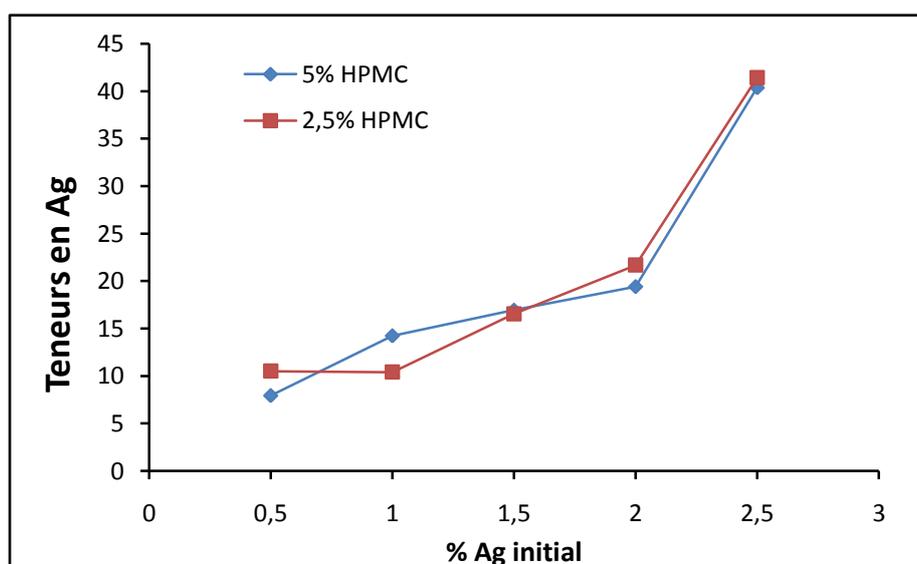
Nous remarquons que les masses des Nps augmentent en fonction du taux de Ag, sauf pour le dernier taux à 2.5% de Ag où la masse du résidu est minimale et estimée à 557.7 mg, et la masse maximale d'environ 950.2 mg est obtenue pour 2% de Ag, pour les formulations avec 5% de HPMC. Dans le cas des formulations avec 2.5% de HPMC, nous notons que la valeur minimale de 389.9 mg correspond au pourcentage minimal (0.5%)

de Ag, tandis que la masse maximale de Nps de l'ordre de 887.9 mg est obtenue pour le pourcentage de 1% de Ag. Les masses des Nps avec 2.5 % de HPMC sont relativement inférieurs à celles des Nps avec 5% HPMC. Ce qui montre que plus le taux de HPMC augmente plus celui-ci enrobe les particules de complexes TEOS-Ag<sup>+</sup>, par une couche plus importante de polymère.



**Figure III-7.** Variation de la masse des résidus des Nps en fonction du pourcentage initial de Ag.

➤ **Variation de la teneur de Ag complexé dans les Nps**

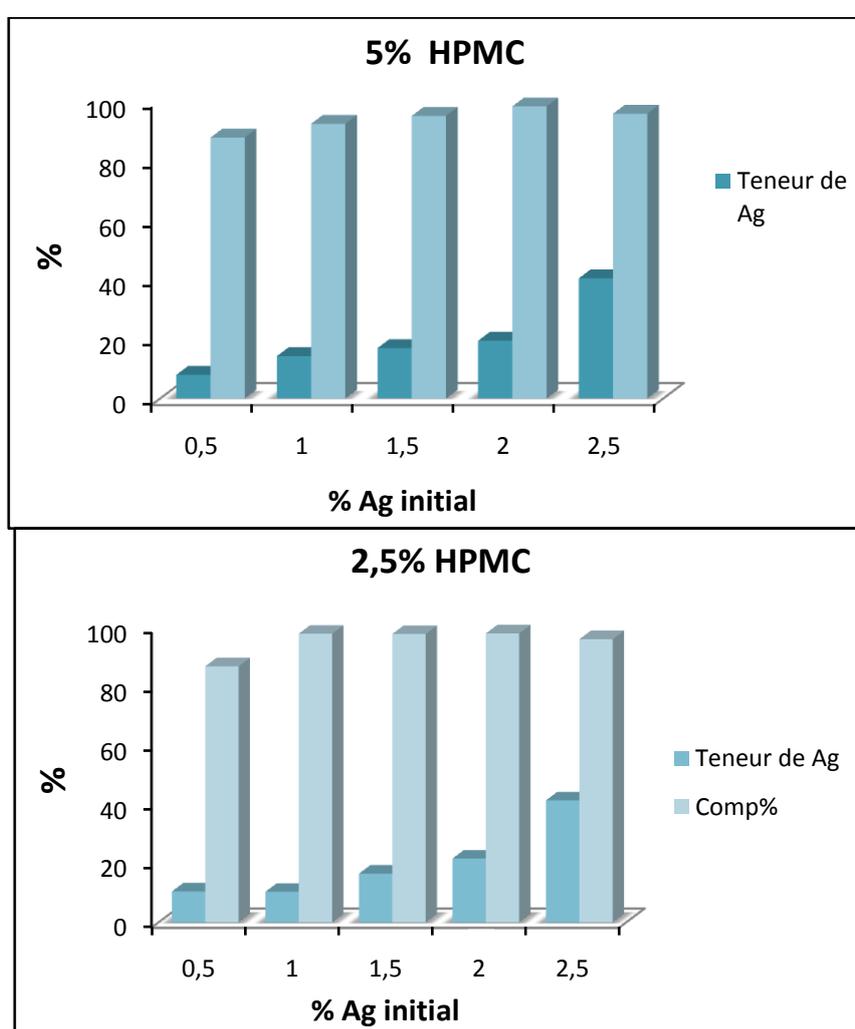


**Figure III-8.** Variation de la teneur de Ag dans les Nps en fonction du pourcentage initial d'Argent.

Sur la **figure III-8**, nous remarquons que les teneurs de Ag dans les Nps augmentent en fonction de l'accroissement du pourcentage initial de Ag, mais dépend peu du taux de HPMC. La teneur maximale de Ag complexé est de 40.37% et de 41.44% respectivement pour 5% et 2.5% de HPMC, correspondant au même pourcentage initial de Ag de 2.5%. Ces teneurs sont conformes aux doses recommandées pour ces formes antibactériennes qui ne doivent dépasser 50% et être au-dessous de 10% en masse des Nps.

➤ **Comparaison entre la variation de la teneur et le taux de complexation de Ag**

Les résultats sont représentés par les histogrammes de la **figure III-9**.



**Figure III-9.** Histogrammes de corrélation entre les teneurs et les taux de complexation de Ag des Nps en fonction du pourcentage initial de Ag.

**-Discussion :**

Nous remarquons que les variations des teneurs de Ag sont plus influencées par la variation

du pourcentage initial de Ag, étant donné qu'elles dépendent aussi de la masse des échantillons des Nps. Plus les masses des résidus de Nps sont moins importantes, plus les teneurs augmentent dans l'échantillon. Contrairement à ceci, le taux de complexation ne dépend que de la concentration de Ag, ce qui donne moins de variation du taux de complexation entre les différentes formulations.

## Partie B

### III-4. Mise en évidence de l'activité antibactérienne

Les formulations de nanoparticules des complexes (TEOS – Ag<sup>+</sup>- HPMC) sont testées sur une population bactérienne d'*E.coli*, pour déterminer l'action de l'Ag sur ces germes. Les différents essais ont été réalisés soit dans des boites de Pétri soit en plastique, ou bien en verre.

#### ✓ Test antibactérien dans des boites de pétri en plastique

Les résultats de ce test, sont illustrés dans les **tableaux III-5 et III-6** respectivement pour 5% et 2.5 % de HPMC :

#### ➤ Pour 5% HPMC

**Tableau III-5.** Zones d'inhibition de la croissance d'E. Coli, en présence du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC, pour 5 % HPMC dans des boites de Pétri en plastique stérile répété deux fois.

% Ag	blanc	0,5%	01%	1,5%	2%	2,5%
V (ml)	25µL	25µL	25µL	25µL	25µL	25µL
Diamètre 1 <sup>e</sup> essai (mm)	Pas d'inhibition	09	10	11	09	09
Diamètre 2 <sup>e</sup> essai (mm)	Pas d'inhibition	09	08	11	07	06
Diamètre moyen (mm)	0	9	9	11	8	7,5

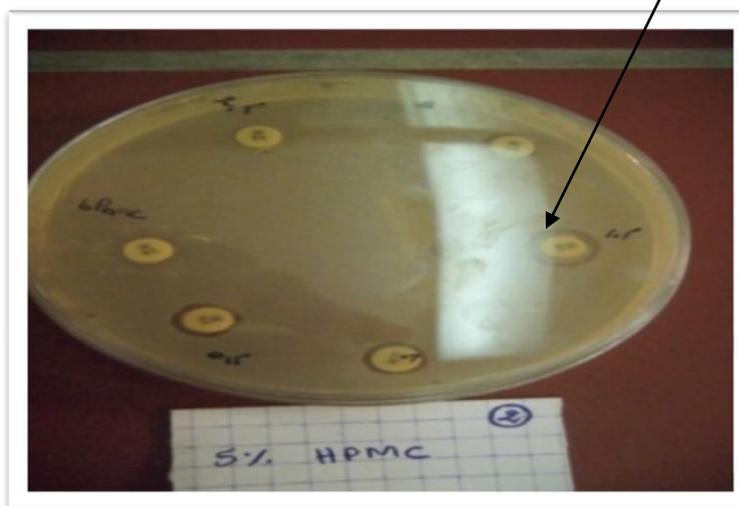
L'observation visuelle, après 24h d'incubation, des zones d'inhibition (Photos de la **figure III-10**) révèle l'accroissement des diamètres des zones autour des puits dans les boites de gélose. Ceux-ci sont relatifs aux différentes formulations avec 5% de HPMC et avec

différents pourcentages de Ag, correspondant à un volume de 25  $\mu$ L, des suspensions de complexe d'argent ajoutés. La comparaison des résultats montre que les zones d'inhibition sont plus étalées et importantes pour le deuxième teste de suspension de complexe. D'après le **tableau III-5**, la valeur maximale du diamètre moyen d'inhibition est obtenue pour 2.5% de Ag, tandis que le diamètre moyen minimal est enregistré à 1.5% de Ag.



-I- (1<sup>e</sup> essai)

Zones d'inhibition



-II- (1<sup>e</sup> essai)

**Figure III-10.** Activité antibactérienne sur les bactéries *E. coli* du complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC) des formulations avec 5 % HPMC sur une boîte Pétrie en plastique stérile à 25 $\mu$ L pour II tests

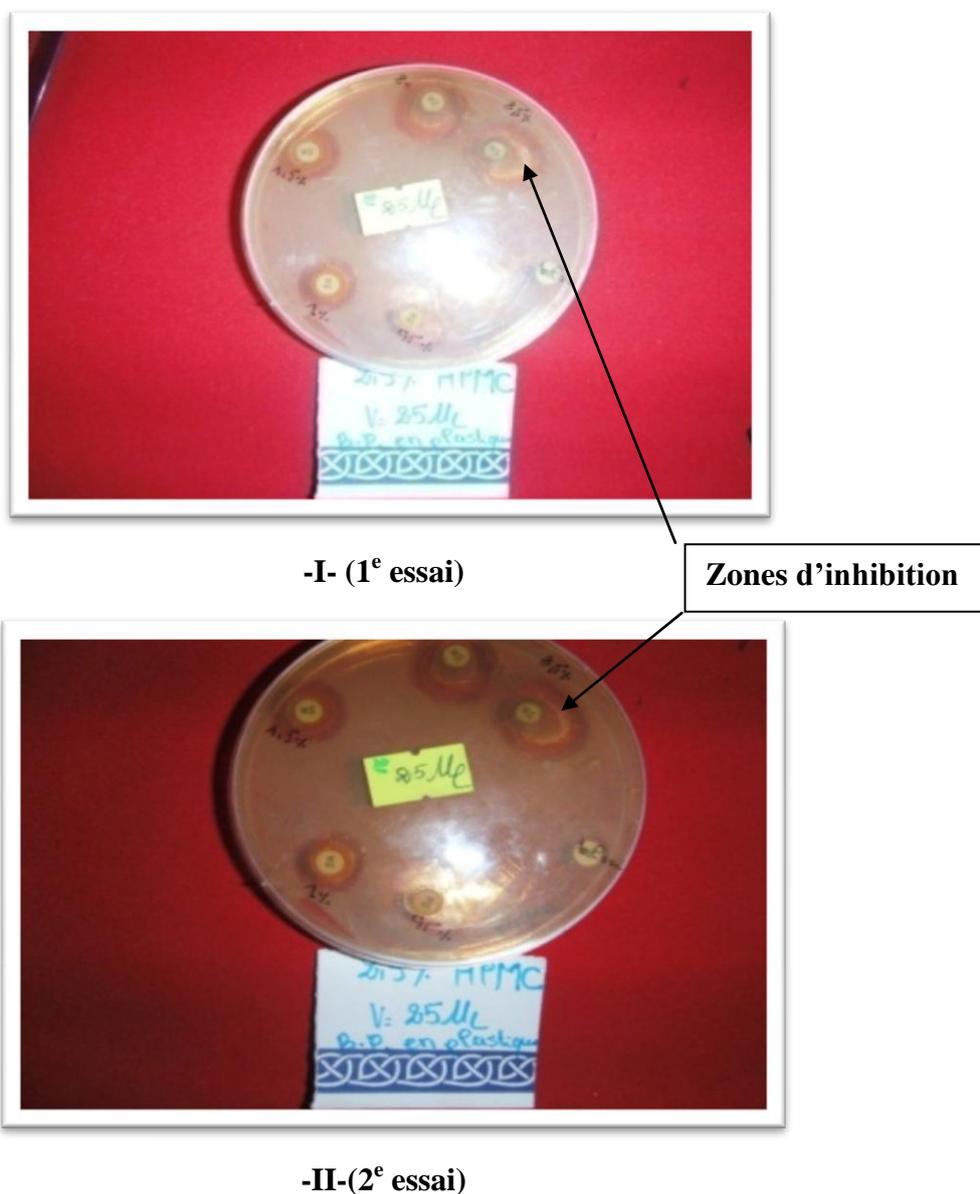
➤ Pour 2.5% HPMC

**Tableau III-6.** : Zones d'inhibition de la croissance d'*E.coli*, en présence du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC, pour 2.5 % HPMC et 25 µL dans des boites de pétrie en plastique stérile testé deux fois.

%Ag	blanc	0,5%	01%	1,5%	2%	2,5%
<b>Volume Prélevé (ml)</b>	25µL	25µL	25µL	25µL	25µL	25µL
<b>Diamètre 1<sup>e</sup> essai (mm)</b>	00	19	16	11	14	11
<b>Diamètre 2<sup>e</sup> essai (mm)</b>	00	21	15	16	19	21
<b>Diamètre moyen (mm)</b>	0	<b>20</b>	15,5	<b>13,5</b>	16,5	16

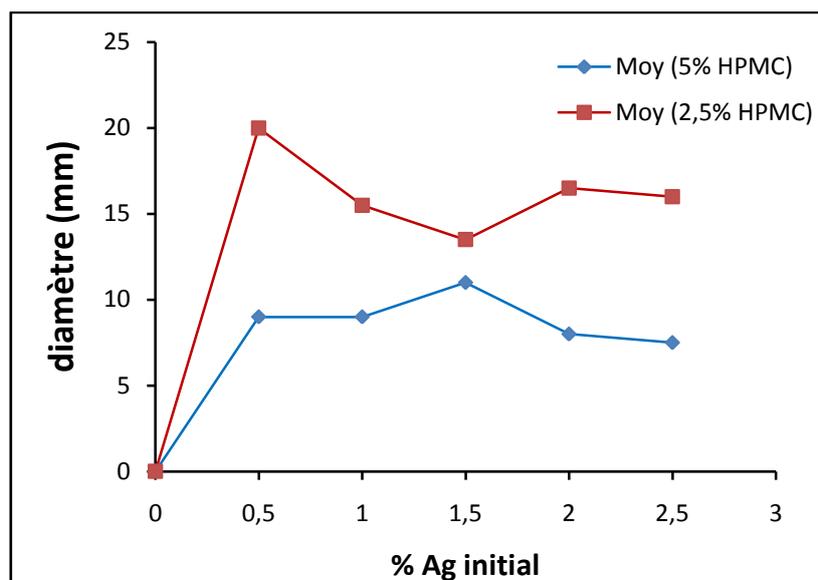
L'aspect des résultats de l'inhibition est montré par les photos de la **figure III-11**.

Après examen visuel des zones d'inhibition, nous remarquons que celles-ci sont plus étalées et présentent des cercles de diamètres supérieurs à ceux obtenus précédemment avec 5% de HPMC. De plus, le diamètre moyen maximal de 20 mm est obtenu pour le pourcentage minimal de 0.5% de Ag, tandis que le diamètre moyen minimal de la zone d'inhibition est obtenu pour 1.5% de Ag.



**Figure III-11.** Photo montrant les zones d'inhibition à 25  $\mu$ L de la formulation avec 2.5% HPMC sur gélose dans des boites de Pétri en plastique

La comparaison des valeurs des diamètres moyens entre les résultats du test antibactérien des formulations avec 5% de HPMC et les formulations avec 2.5% de HPMC est représentée par les courbes de la **figure III-12**.



**Figure III-12.** Moyennes des diamètres des zones d'inhibition d'*E. coli*

✓ **Tests antibactérien dans des boîtes de Pétri en verre**

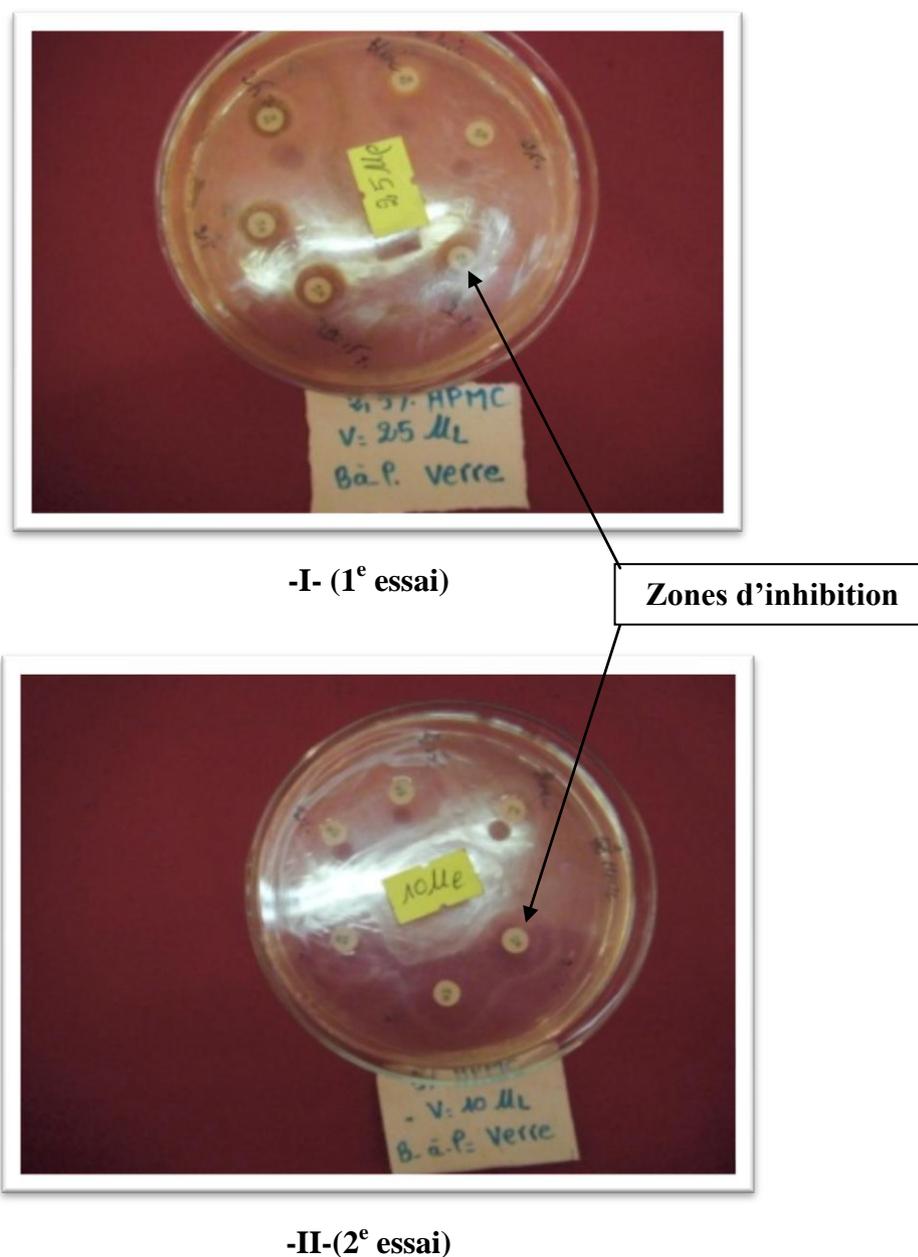
➤ **Avec 5% HPMC**

Le **tableau III-7** représente les diamètres des zones d'inhibition après 24h d'incubation, obtenus avec 10 et 25µL des formulations, introduits dans les puits de gélose dans des boîtes de Pétri en verre.

**Tableau III-7.** Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de la bactérie *E. coli*, en présence du complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC), pour 5 % HPMC avec 10 et 25µl de formulation, sur gélose dans des boîtes de pétrie en verre

%(Ag)	blanc	0,5%	01%	1,5%	2%	2,5%
Volume Prélevé (ml)	25µL	25µL	25µL	25µL	25µL	25µL
Diamètre (mm)	00	14	17	24	18	30
Volume Prélevé (ml)	10µL	10µL	10µL	10µL	10µL	10µL
Diamètre (mm)	00	18	20	19	24	24

L'aspect des zones d'inhibition avec 25µL est observé visuellement après examen des boîtes de Pétri en verre (**figure III-13**).



**Figure III-13.** Photos montrant les zones d'inhibition à 10 µL et 25 µL de la formulation avec 5% HPMC sur gélose dans des boîtes de Pétri en verre

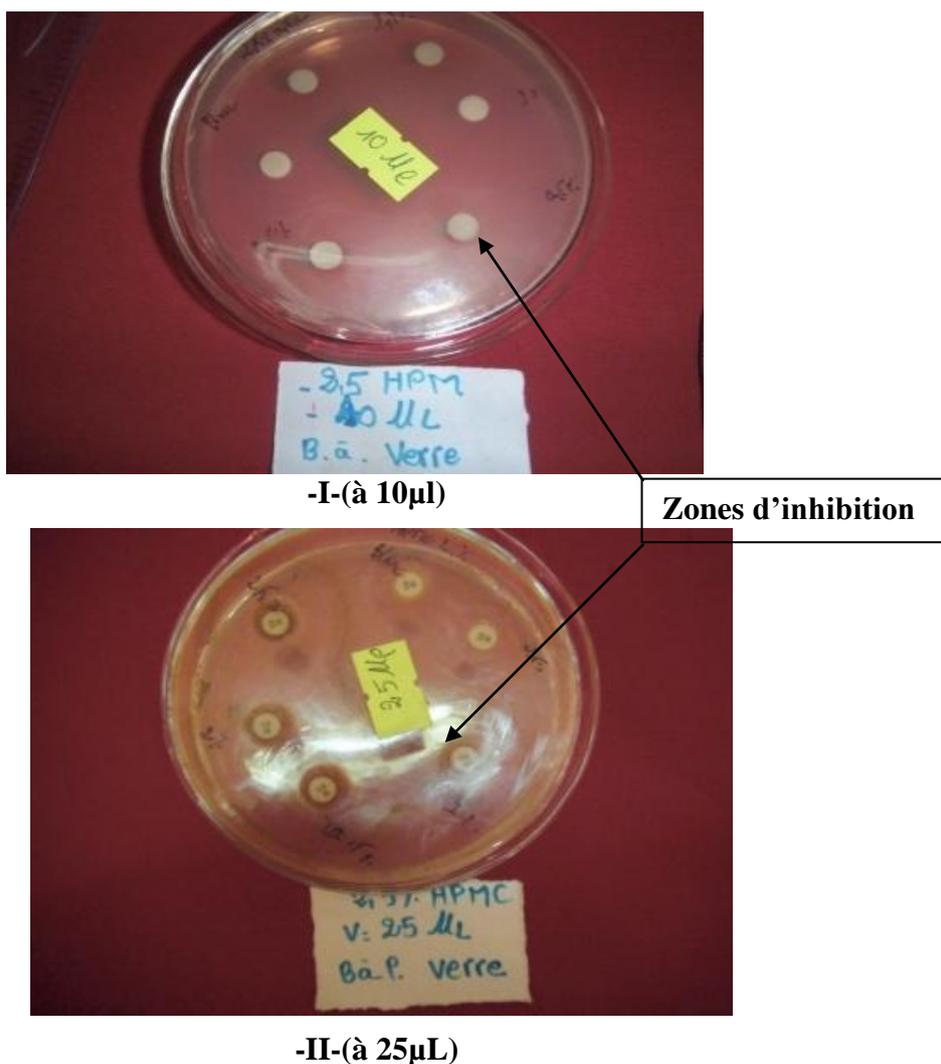
➤ **Pour 2.5% HPMC**

Le même test a été réalisé sur des colonies d'*E.coli* avec les formulations à 2.5% de HPMC en utilisant des boîtes de Pétri en verre. Les résultats sont regroupés dans le **tableau III-8**.

**Tableau III-8.** Diamètres des zones d'inhibition de la croissance de la bactérie E. Coli, en présence du complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC), pour 2.5 % en masse d'HPMC sur une boîte de Pétrie en verre

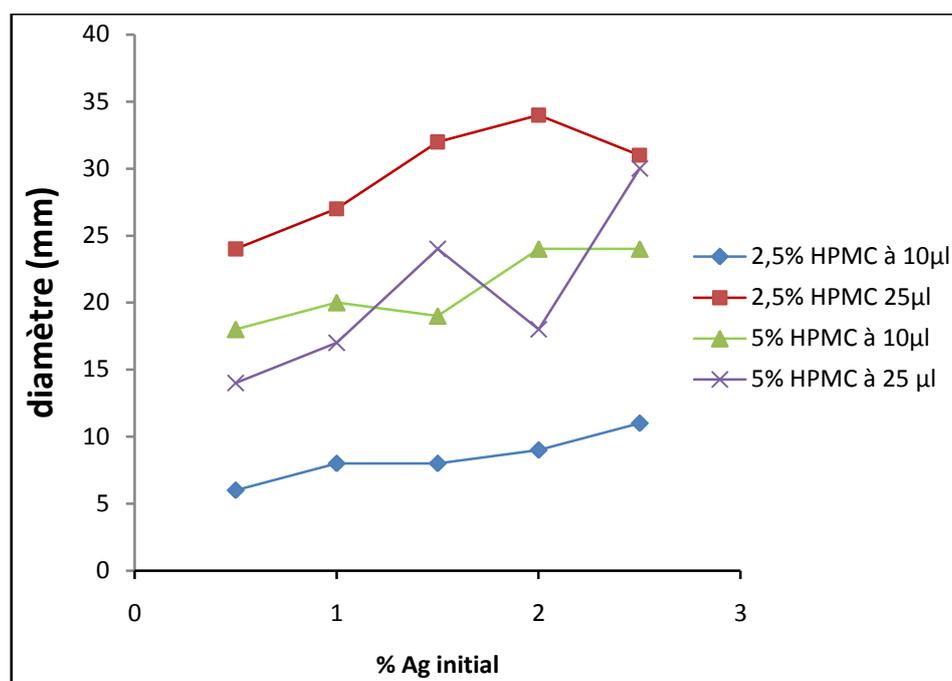
%Ag	blanc	0,5%	01%	1,5%	2%	2,5%
Volume Prélevé (ml)	10µL	10µL	10µL	10µL	10µL	10µL
Diamètre D'inhibition (mm)	00	06	08	08	09	11
Volume Prélevé (ml)	25µL	25µL	25µL	25µL	25µL	25µL
Diamètre D'inhibition (mm)	00	24	27	32	34	31

L'aspect des zones d'inhibition est illustré par la **figure III-14.**



**Figure III-14.** Zones d'inhibition de la formulation à 2.5 % HPMC avec : I) 10 $\mu$ l ; II) 25 $\mu$ L de la formulation, déposés sur gélose dans une boîte de pétri en verre.

Les variations des diamètres des zones d'inhibition, pour les différentes formulations et volumes et avec 2.5 % et 5% de HPMC sont résumés dans la **figure III-15**.



**Figure III-15.** Les diamètres des zones d'inhibition d'E. Coli, par les suspensions de Nps de complexes (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC), en fonction des pourcentages en masse de Ag dans des boîtes de pétri en verre.

#### -Lecture

Les résultats de l'effet antibactérien, des différentes formulations de nanoparticules du complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC), montrent que les valeurs des diamètres des zones d'inhibition dépendent non seulement du pourcentage initial de Ag mais aussi du volume de suspension, elles sont plus élevées avec 2.5% de HPMC et pour un volume de suspension maximal de 25 $\mu$ L et à 2% de Ag. Les moins élevées correspondent à 10  $\mu$ L de suspension et pour le même taux (2.5%) de HPMC. Les écarts entre les valeurs sont moins importants pour les deux volumes de suspension (10 ou 25  $\mu$ L) concernant les formulations avec 5% de HPMC.

## **-Conclusion**

L'effet antibactérien sur les colonies d'E. Coli augmente sensiblement avec le pourcentage initial de Ag, et il est nettement influencé par le taux de HPMC et le volume de suspension ajoutée. Plus le taux de HPMC augmente, plus l'activité ne diminue pour 25 $\mu$ L de suspension. Contrairement, l'activité antibactérienne augmente si le taux de HPMC croît pour 10  $\mu$ L de suspension.

## **Conclusion générale**

---

### Conclusion générale

L'argent étant un agent antibactérien, qui a suscité beaucoup d'intérêts, en raison de ses propriétés antiseptiques, antimicrobiennes et son rôle désinfectant remarquable auparavant, à l'exception de quelques autres propriétés comme l'oxydation, la précipitation, la mal conservation qui conduit à la dégradation des produits qui ont amoindri son utilisation.

Dans ce travail nous avons regroupé deux parties distinctes :

- La première partie traite la formulation de nanoparticule de complexes (TEOS-Ag+-HPMC).
- La seconde partie consiste à l'évaluation de l'activité antibactérienne des formulations synthétisées sur *Escherichia. Coli*.

Avant d'entamer la formulation de nanoparticule de complexes, nous avons d'abord formulé un sol-gel à base d'hydrolyse du TEOS, ensuite nous avons passé à la formulation dans des conditions (température, agitation, conductivité de l'eau bidistillé...) strictement respecté afin d'aboutir à notre formulation en l'occurrence de l'effet antibactérien maximale.

Afin de quantifier l'Ag dans ces différentes phases de formulation nous avons étudié les caractéristiques physico-chimiques des différents résidus (R1, R2, R3) par :

➤ La diffraction de rayon X (DRX), qui a montré la cristallisation et la semi cristallisation du PA utilisé ( $Ag^+$ ) et de HPMC respectivement

Les plans de diffractions des différents résidus (surnageant trouble, culot, dépôt récupéré après lavage)

**R1** : (surnageant trouble) existence d'un hybride (TEOS-HPMC), pour ce résidu de précipitation blanche ne contient pas les cations d'argent, ou bien ceux-ci sont à l'état seulement de traces, recouvert par un film de HPMC par encapsulation des Nps de (TEOS-Ag+).

**R2** : (dépôt du fond du tube) ces pics de diffraction montrent la restructuration par complexation des cations  $Ag^+$ , Et restructuration à l'échelle nanométrique du complexe

Les cristaux formant les particules du complexe subissent une croissance, montrant aussi que la structure attribuée au complexe est une structure nanosphère.

**R3** (récupéré du dépôt après lavage) même raie de diffraction que R2, même caractéristique

➤ caractérisation par IR montrant qu'il y'a création d'une nouvelle liaison entre le TEOS et les cations de  $Ag^+$ .

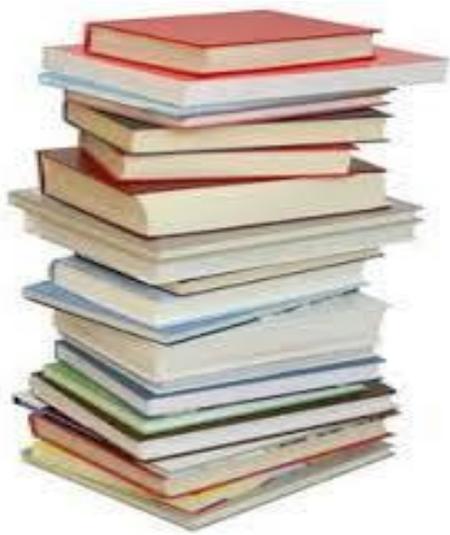
Ces liaisons peuvent également être associées soit par liaisons hydrogènes ou par liaisons dipolaires avec les groupements C-O ou OH du HPMC

➤ caractérisation par UV détermine l'absorption des espèces d'Ag<sup>+</sup> à l'état de complexe dissout dans l'eau. A longueur d'onde maximale se déplace de 227 nm à 231 nm relatif à un effet bathochrome, sous l'influence de l'augmentation du taux de Ag<sup>+</sup> par une analyse qualitative d'une part, et quantitative d'autre part ce qui explique précisément la quantité de Ag

Ceci montre que l'encapsulation des nanoparticules de TEOS-Ag<sup>+</sup> par le HPMC, est plus influencée par le TEOS que par les cations de Ag<sup>+</sup>. Et la teneur des Nps en Ag, montre que plus le taux de HPMC augmente plus celui-ci enrobe les particules de complexes TEOS-Ag<sup>+</sup>, par une couche plus importante de polymère.

Finalement on a abouti à l'action de notre formulation de nanoparticule de complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC) sur les colonies d'*E. coli* qui augmente sensiblement avec le pourcentage initial de Ag, et il est nettement influencé par le taux de HPMC et le volume de suspension ajoutée.

- Tester nos formulations sur d'autres colonies a gram+ tel que les Staphylococcus.
- Etude de la stabilité des formulations dans les conditions normales et de stress pour décider de la meilleure formulation en termes de stabilité.
- Optimiser le taux de HPMC pour améliorer l'encapsulation et la diffusion de Ag<sup>+</sup> à travers le film de HPMC, d'où l'amélioration de l'activité antibactérienne vis-à-vis de *E-Coli*.
- étude de la cinétique de libération dans des milieux physiologique.



## **Références bibliographiques**

---

- [1] - Copyright © 2013 Eau positive - Tous droits réservés
- [2] -Gupta et cooper, 2008 ;livre atlas de poche de pharmacologie HEINZ LUMANN-KLAUS MOHR (3<sup>ème</sup> Edition)
- [3] - PAPAGIANI, 2003 ; YEMAN et YOUNT, 2003, spécialité science biologique option biochimie appliquée à la bio-industrie, 2013-2014
- [4] -TONY HART et PAUL SHEARS livre atlas de poche de microbiologie (médecine-sciences) flammarion
- [5] -© UMVF - Université Médicale Virtuelle Francophone
- [6] - Copyright © 2015 Elsevier B.V. or its licensors or contributors. ScienceDirect® is a registered trademark of Elsevier B.V.
- [7] -Stéphany Gardier Service infographie du Figaro - le 29/07/2013  
INFOGRAPHIE - Des chercheurs américains démontrent comment une bactérie intestinale peut inactiver la digoxine, un célèbre cardiotonique.
- [8] - [www.safewater.org](http://www.safewater.org) Source: [http://www.microbe.org/microbes/%20friend\\_or\\_foe.asp](http://www.microbe.org/microbes/%20friend_or_foe.asp) (E Coli)
- [9] - Elfadil A.A., Vaillancourt J.P., Meek A.H., Julian R.J., Gyles C.L. (1996).
- [10]-Minor L., Richard C. (1993). Méthodes de laboratoire pour l'identification des entérobactéries. Institut Pasteur, Paris.
- [11] - Kisilevsky VE et al., « Monitoring vestibular ototoxicity », Roland PS, Rutka JA, eds. Ototoxicity. Hamilton, Canada: BC Decker, 2004, p. 161–169
- [12]-Georges Cheymol, traduction de la 1<sup>er</sup> édition anglaise ; livre de Pharmacologie intégrée
- [13]-Khiati M (1998) Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.
- [14] - Pocidalo J-J (1989) Des infections d'origine microbiennes ou virale. In: Brisset C et Stoufflet J (Directeurs) Santé et médecine, l'état des connaissances et des recherches. Editions La Découverte / INSERM / ORSTOM.
- [15] - (Pasteur et Joubert, 1877)
-

- [16] -: (H. Florey, E. Chain) Prix Nobel de Médecine, 1945
- [17] - médicament anti-infectieux par
- [18] -PR.Aact. philippon ; livre résistances des bactéries aux Antibiotique ;Faculté de Médecine Decartes ; UNIVERSITE PARIS DESCARTES
- [19] -ADAM F. ET DROUILLARD I. Sulfamides et associations. EncyclMédChir , Maladies infectieuses,8-004-A-10, 2003 :9 p.
- [20] -AUCKENTHALER R. Activité antibactérienne. Spectre. Mode d'action. Cibles bactériennes In : Antibiothérapie en pratique clinique.  
BERGOGNE-BEREZIN E., DELLAMONICA P. Masson ,1995 :P17-32
- [21] -[www.bactériologie.net](http://www.bactériologie.net)
- [22] -StéphanyGardierle 29/07/2013
- INFOGRAPHIE - Des chercheurs américains démontrent comment une bactérie intestinale peut inactiver la digoxine, un célèbre cardiotonique.
- [23] - DCEM1 cm antibioti poly réel 2007-08 M SOILLEUX 12 p (08/10/2007)
- [24] -Grillot R –les mycoses humaines : demarche diagnostique. Paris. Esevier science 1995
- [25] - Marie-Paule Mingeot-leclerq (Dr Sc .pharmlic .Sc) et d'Etienne Sonveaux (Dr Sc) 2007-2008
- [26] -Laprent et Laprant – Gurgaud,1997
- [27] - microbiologies pratique par le laboratoire Camille Delarras en microbiologie a l'IUT de Brest
- [28] - Bouzid W, Yahia M, Abdeddaim M, Aberkane M C et Ayachi A (2011). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de L'AubepineMonogyne. Lebanese Science Journal, **12** (1), 59-69.
- [29] - Ph. Bouché .lebland ,1997 ; antifongique ; livre 2<sup>eme</sup> édition
- [30] - P. Regli ABREGES mycologie générale et médicale ; antifongique ; livre 2<sup>eme</sup> édition
- [31] - (Gupta et Cooper, 2008) ; antifongique ; livre 2<sup>eme</sup> édition
- [32] - (Georgopapadakou et Walsh, 1996) ; antifongique ; livre 2<sup>eme</sup> édition
- [33] - (Chabasse et al. 1999). ; antifongique ; livre 2<sup>eme</sup> édition
-

- [34] - Sarah Fouilloux. Nanoparticules et microfluidique pour un système modèle d'émulsions de Pickering. Etude des mécanismes de stabilisation et de déstabilisation. Physics. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2011. French. <tel-00628612>
- [35] - Schubert D, Dargusch R, Raitano J, Chan S W 2006 Cerium and yttrium oxide nanoparticles are neuroprotective Biochem. Biophys. Res. Commun. **342**86-91
- [36] - Goodman C M, McCusker C D, Yilmaz T, Rotello V 2004 Toxicity of gold nanoparticles functionalized with cationic and anionic side chains Bioconjugate Chem. **15** 897-900
- [37] - (Letchford and Burt, ). Zhang, W., Huang, J., Fan, N., Yu, J., Liu, Y., Liu, S., Wang, D., Li, Y. (2010). Nanomicelle with long-term circulation and enhanced stability of camptothecin based on mPEGylated  $\alpha,\beta$ -poly (l-aspartic acid)-camptothecin conjugate. Colloids and Surfaces B Biointerfaces, 81, 297-303
- [38] - (Vauthier and Bouchemal, 2009).
- [39] - (Sahoo and Labhasetwar, 2003).
- [40]- (Huang et al. 2011)
- [41] - (Horcajada et al, 2008)
- [42] - (McKinlay et al. 2010).
- [43] - Pinto Reis .c nanoparticules polymères de deuxième et troisième générations pour des applications thérapeutiques anti-cancer et anti-hiv Laboratoire de Chimie-Physique Macromoléculaire (LCPM) – Nancy, Ecole doctorale Ressources Procédés et Produits de l'Environnement (RP2E) – Nancy Pour le grade de Docteur de l'Université de Lorraine Maxime LAVILLE 2013
- [44] -Eversole W.G., Boardman W.W., The effect of electrostatic forces on electrokinetic potentials. Journal of Chemical Physics, 9:11 (1941) p. 798-801
- [45] - T. Tadros, Interparticle interactions in concentrated suspensions and their bulk (Rheological) properties, Adv. Coll. Interf. Sci., 168 (2011) p. 263-277
- [46] - E. J. W. Verwey, J. T. G. Overbeek, Theory of the stability of lyophobic colloids, Elsevier, Amsterdam, 1948
- [47] - P.C. Hiemenz, Principles of colloid and surface chemistry, Marcel Dekker, New-York, 1986
- [48] -F. A. Cotton, G. Wilkinson, P.L. Gaus, Basic inorganic chemistry, Ed. John Wiley 1995
-

- [49] -S.F.A.Kettle, Physico-chimieinorganique.Ed.DeBoek 1999
- [50] -I.I.Cheryaev, T.N.Leonova, Zh.Neorg.Khim 10 (1965) 1935
- [51]- D. R. Coulter, E. F. Cuddihy, and E. P. Plueddemann, Chemical Bonding Technology for Terrestrial Photovoltaic Modules, JPL Publication 83-86, Jet Propulsion Laboratory, Pasadena, CA (November 15, 1983).
- [52] - (Arkles, 1977; Sutra, et al, 1999).
- [53] - (Price, et al, 2000). Nanoparticules et microuidique pour un système modèle d'emulsions de Pickering. Etude des mécanismes de stabilisation et d'estabilisation. Sarah Fouilloux
- [54] - Janka J, Maldarelli F 2004 Prion Diseases: Update on Mad Cow Disease, Variant Creutzfeldt-Jakob Disease, and the Transmissible Spongiform Encephalopathies Curr. Infect. Dis. Rep. **6** 305-315
- [55] - Nanotechnology. Untold promise, unknown risk, Consumer Reports, July 2007, 40-45,
- [56] - De Heer, W. A. Rev. Mod. Phys. 1993, **65**, 611-676
- [57] - García-Antón, J.; Axet, M. R.; Jansat, S.; Philippot, K.; Chaudret, B.; Pery, T.; Buntkowsky, G. & Limbach, H.-H. Angew. Chem. Int. Ed. 2008 **47**, 2074-2078
- [58] - Nel A, Xia T, Madler L, Li N 2006 Toxic potential of materials at the nanolevel Science **311** 622-627
- [59] - (CALMIP) Bonnefille, E., E.; Novio, F.; Gutmann, T.; Poteau, R.; Lecante, P.; Jumas, J.-C.; Philippot, K. & Chaudret, B (2014). Tin-decorated ruthenium nanoparticles: a way to tune selectivity in hydrogenation reaction, Nanoscale **6**: 9806-9816
- [60] - (CALMIP) Fischer, G.; Poteau, R.; Lachaize, S. & Gerber, I. C. (2014) Surfaces of a Colloidal Iron Nanoparticle in Its Chemical Environment: A DFT Description, Langmuir **30** : 11670-11680
- [61] - (CALMIP) delRosal, I.; Mercy, M.; Gerber, I. C. & Poteau, R. (2013). First-principles analysis of the adsorption and electronic structure properties of ruthenium nanoparticles, ACS Nano **7**: 9823-9835.
- [62] - Gutmann, T.; Bonnefille, E.; Breitzke, H.; Debouttiere, P.-J.; Philippot, K.; Poteau, R.; Buntkowsky, G. & Chaudret, B. (2013). Investigation of the Surface Chemistry of Phosphine-Stabilized Ruthenium Nanoparticles - an Advanced Solid-state NMR Study, Phys. Chem. Chem. Phys.
-

- [63] - A. Duteil, G. Schmid, W. Meyer-Zaika, J. Chem. Soc., Chem. Commun. **1995**, 31.
- [64] - A.A. Cotton G Wilkinson, PL gaus Basic inorganic chemistry. Ed Johonwiley 1995
- [65] Churg A 2003 Interactions of exogeneous or evoked agents and particles: the role of reactive oxygen species Free Radical Biol. & Med. **34** 1230–1235
- [66] - Donaldson K, Tran L, Jimenez L A, Duffin R, Newby D E, Mills N, MacNee W, Stone V 2005 Combustion-derived nanoparticles: a review of their toxicology following inhalation exposure part. Fibre Toxicol. **2** 10
- [67] - (Office européen des brevets, 2007). Elaboration de nanoparticules d'argent par reduction de sels m\_etallo-organiques : contr^ole de taille, stabilit\_e, organisation et proprietes physiques Amandine Andrieux - Ledier
- [68] - [Kampmann et al.2008]. Elaboration de nanoparticules d'argent par r\_education de sels m\_etallo-organiques : contr^ole de taille, stabilit\_e, organisation et propri\_et\_es physiques Amandine Andrieux - Ledier
- [69] - [Height 2009]. Elaboration de nanoparticules d'argent par r\_education de sels m\_etallo-organiques : contr^ole de taille, stabilit\_e, organisation et propri\_et\_es physiques Amandine Andrieux – Ledier
- [70] Park K., Shalaby S.W. and Park H., 1993. Biodegradable hydrogel for dmg delivery, Technomic publication, Pennsylvania, 1- 140.
- [71] Flory P.J. and Rehner J. Jr., Statistical mechanics of cross-linked polymer networks, fl.Swelling, J. Chem. Phys., 521-526.
- [72] - Jonnathan Goole., 2008. Développement et évaluation de mini comprimé flottants à libération prolongée », thèse de doctorat en science pharmaceutique, université de Bruxelles
- [73] -Mme Boukehil-Merahi Souad, “ Contribution a l'étude des propretés électriques se films minces élaborés par plasma froids a partir de mélanges tetraethylorthosilicate- oxygène”
- [74] -F.Collingnon, Cahier technologique sol-gel, (2008, Centre de ressources technologiques enchimie. Belgium
- [75] -B. Halford, « A Silver Bullet for Infections? » Chemical and Engineering News (2006)
- [76](Wataha et al., 2000 ; Yang et Pon, 2003 ; Chohan et al., 2006).
- [77] - 1991, cité par Gobat et al., 2010 ;Grandjean et al., 2011
-

- [78] -G.FLEURY, « des polyrtaxanes de haute masse moléculaire au réseau topologique :les gels à point de réticulation glissant », thèse de doctorat en chimie et science des matériaux, université de Strasbourg I, 2005.
- [79] -RamnikSnigh; NitinBahrti; JyotsanaMadan; S.N. Hiermath, « characterization of CD inclusion complexes- A review », Journal of Pharmaceutical Science and Technology vol. 2 (3), 2010
- [80] - Hunt, B.J. and James, M.I., 1993. Polymer Characterisation, Glasgow, London: Blackie Academic and Professional
- [81] -PINTA mairice. Spectroscopie d'absorption atomique. Vol 2. Edition Masson 1971.
- [82]- S. Brunnauer, P.H. Emmet and E. Teller, Adsorption of Gases in Multi molecular Layers,  
J. Am. Chem. Soc. 60 (1938) 309-319.
- [83] - J. Madejová, FTIR techniques in clay mineral studies, Vibrational Spectroscopy 31 (2003) 1–10.
- [84] - J. Madejová, J. Bujdák, M.Janek, P. Komadel, Comparative FT-IR study of structural modifications during acid treatment of dioctahedralsmectites and hectorite, Spectrochimica Acta A 54 (1998) 1397–1406.
- [85] - J. Temuujin, T.S. Jadambaa, G. Burmaa, Sh. Erdenechimeg, J. Amarsanaa, K.J.D MacKenzie, Ceramics International 30 (2004) 251–255.
- [86] - L Zattaetal.Acid-activated montmorillonites as heterogeneous catalysts for the esterification of lauric acid acid with methanol, Applied clay science 80-81 (2013) 236-244
- [87] - I. Langmuir, The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and Platinum, J. Am. Chem. Soc. 40 (1918) 1361-1403.
- [88] -: Buckley, Journ. Chem. Educ. dans l'article de Angelova ) : thèse de Warnant, 2010)
- [89] -Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers (Preparation of nanostructured organic/inorganic polymer hybrids and their humidity sensing properties)
- [90] -Bariain, C., I. R. Matias, F. J. Arregui, and M. Lopez-Amo, “Experimental ResultsTowards. Development of Humidity Sensors by Using a Hygroscopic Material on Biconically
-

Tapered Optical Fibre,’’ *SPIE*, 3555, 0277 (1998).Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers; Preparation of nanostructured organic/inorganic polymer hybrids and their humidity sensing properties

[91]- Sanchez C, Julian B, Belleville P, Popall M. Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites. *J Mater Chem*. 2005; 15:3559\_3592. (Synthesis, characterization and antibacterial assessment of SiO<sub>2</sub>-hydroxypropylmethyl cellulose hybrid materials with embedded silver nanoparticles)

[92]- WikiHow Traduction, Mcecile, Team FR; Grow Bacteria in a Petri Dish.  
[www.stevespanglerscience.com/lab/experiments/growing-bacteria](http://www.stevespanglerscience.com/lab/experiments/growing-bacteria)

[93]- Ross J L, Boon P I, Ford P, Hart B T. Detection and quantification with 16S rRNA probes of planktonic methylotrophic bacteria in a floodplain lake. *Microbial Ecology*. 1997.

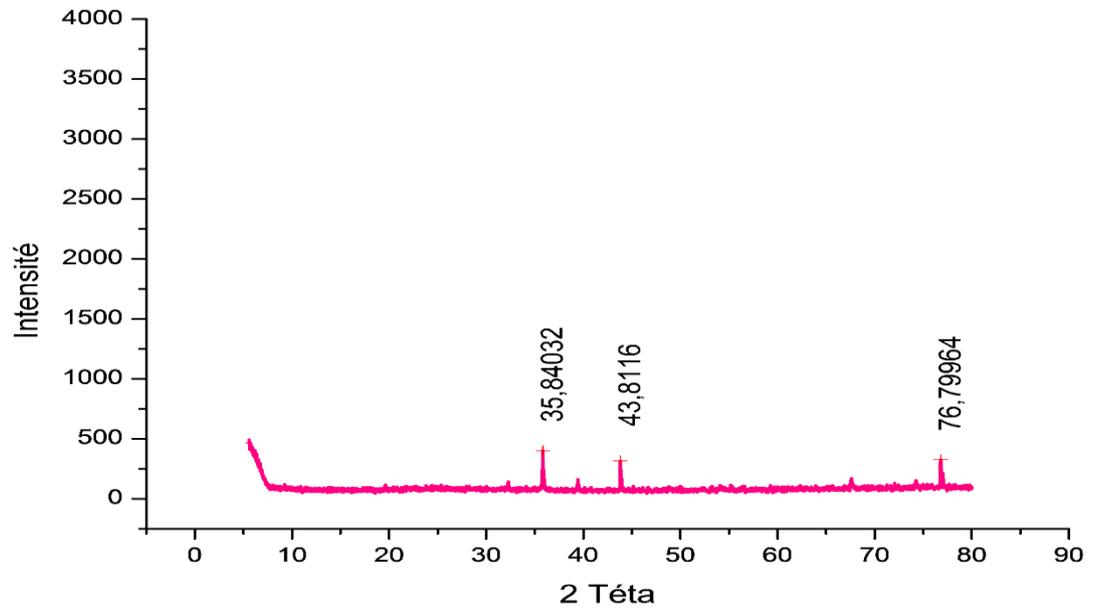
[94] - Lili *et al.* 2007.

[95] - Hung-Jie Liou, Gobalakrishnan Suyambrakasam, Te-Chin Tsai, Ren-Jang Wu, Murthy Chavali, Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2011, in press].

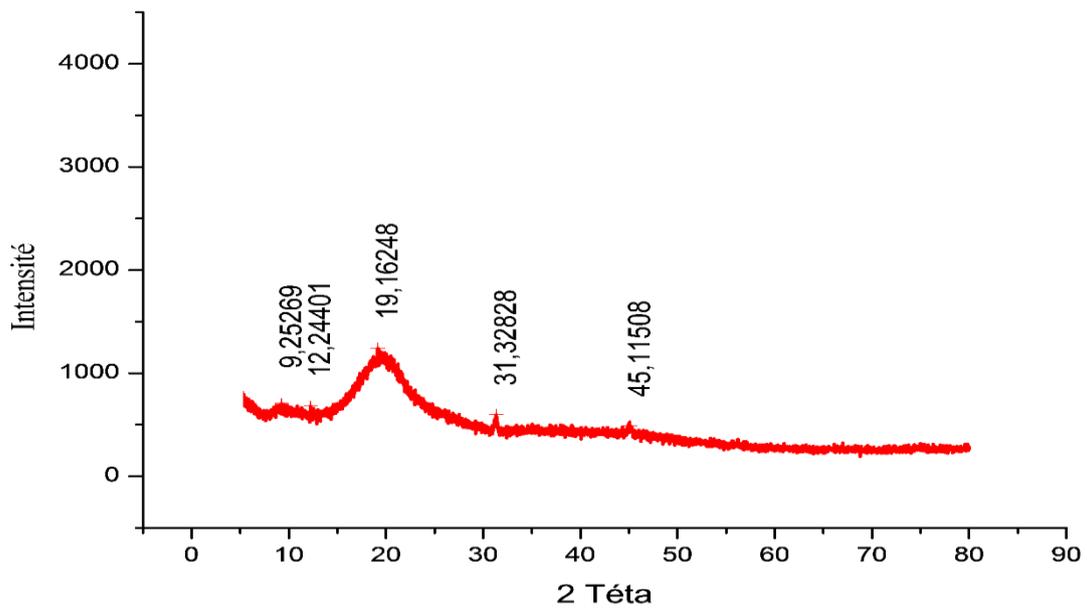
---

## **Annexes**

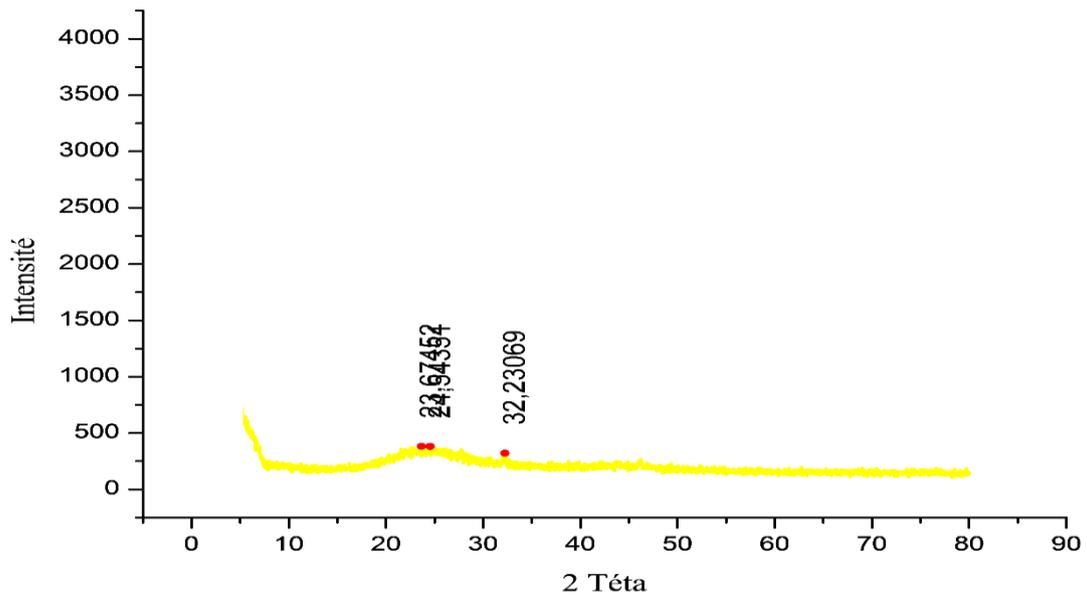
---



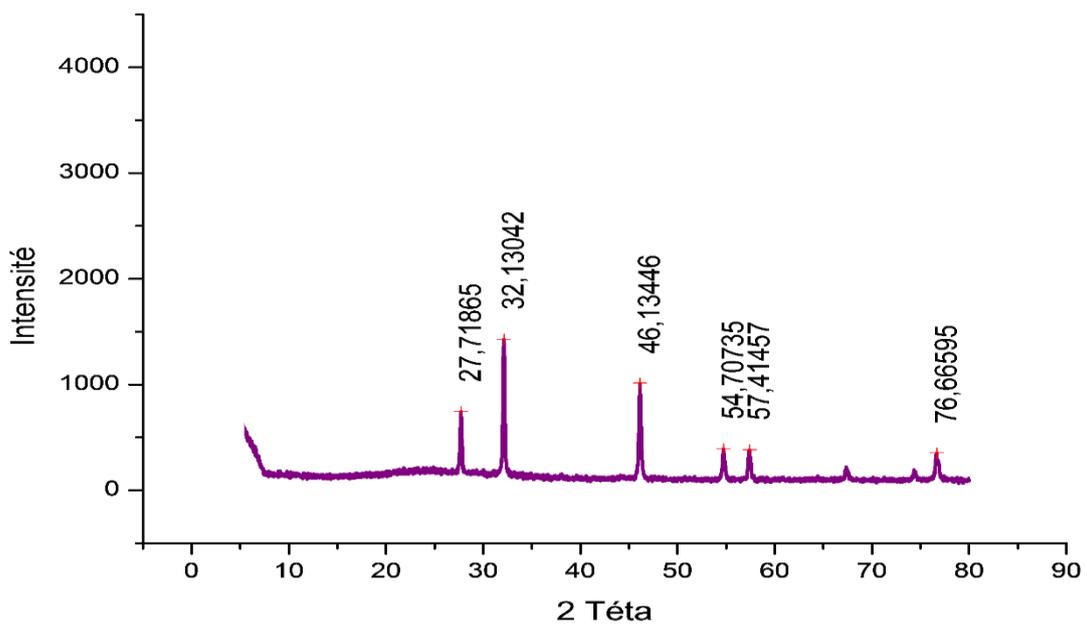
1. Diffractogramme X de AgNO<sub>3</sub>



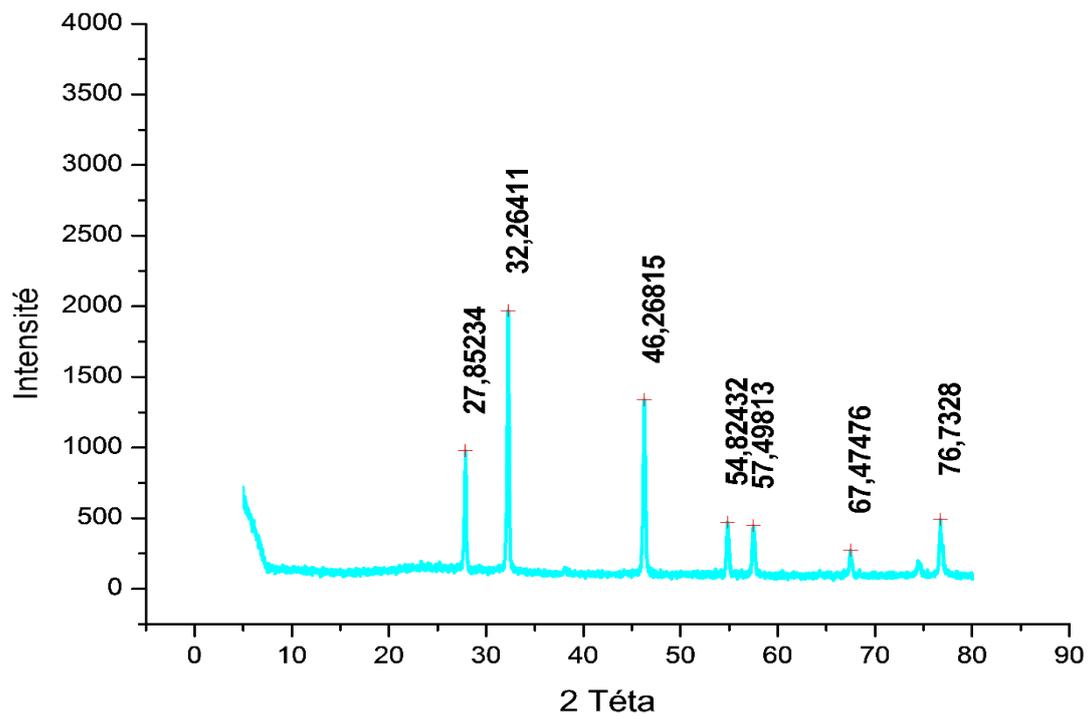
2. Diffractogramme X d'HPMC



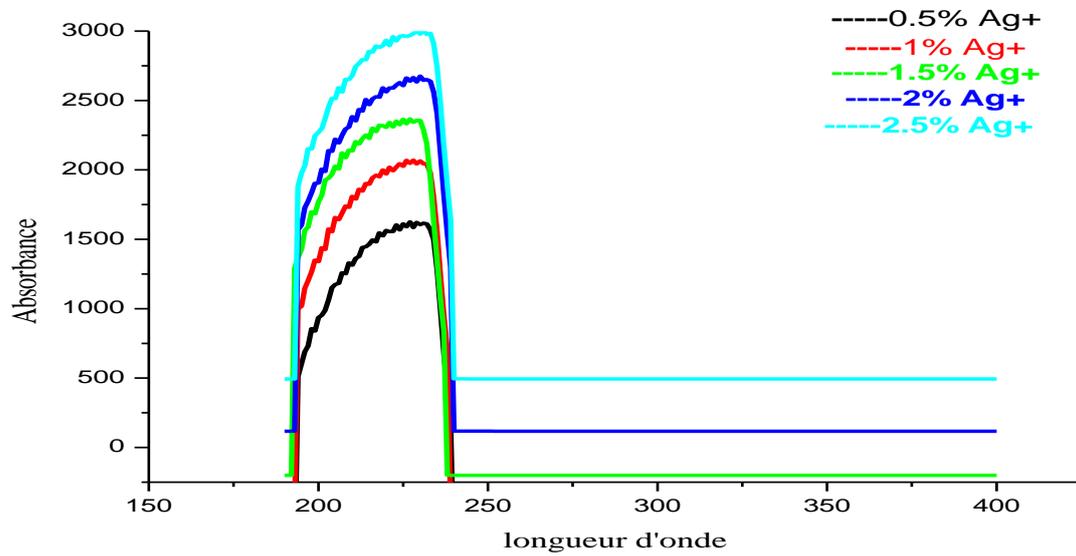
3. Diffractogramme Xde Nps de complexes (TEOS-Ag<sup>+</sup> -HPMC) du résidu récupéré du surnageant trouble de la formulation 0.5% de Ag et 5% de HPMC (F01)



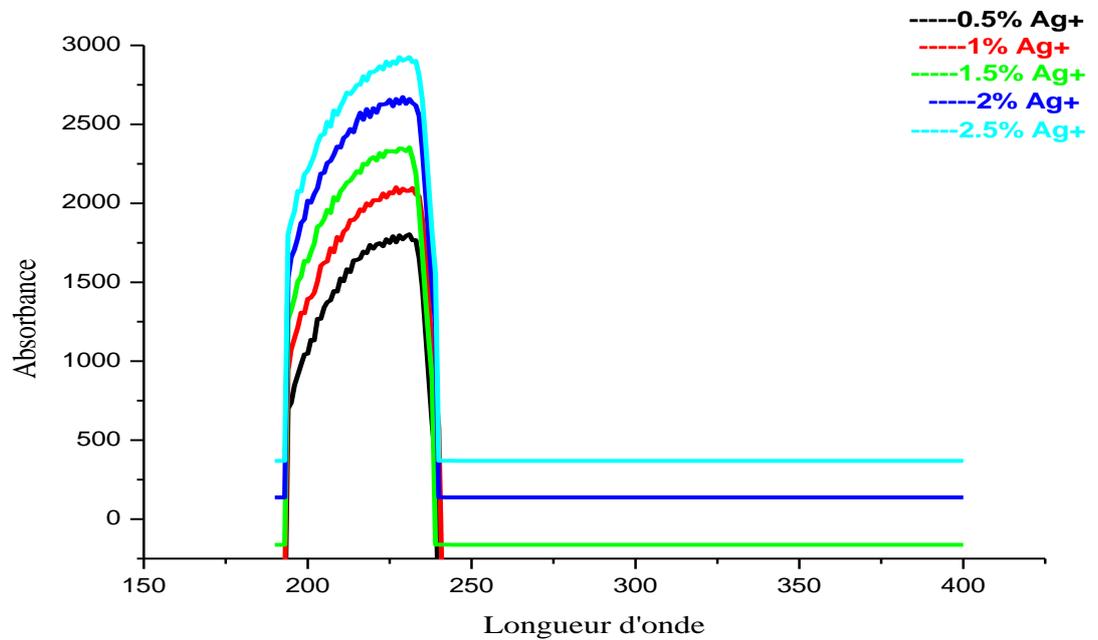
4. Diffractogramme X du dépôt (R2) du fond du tube



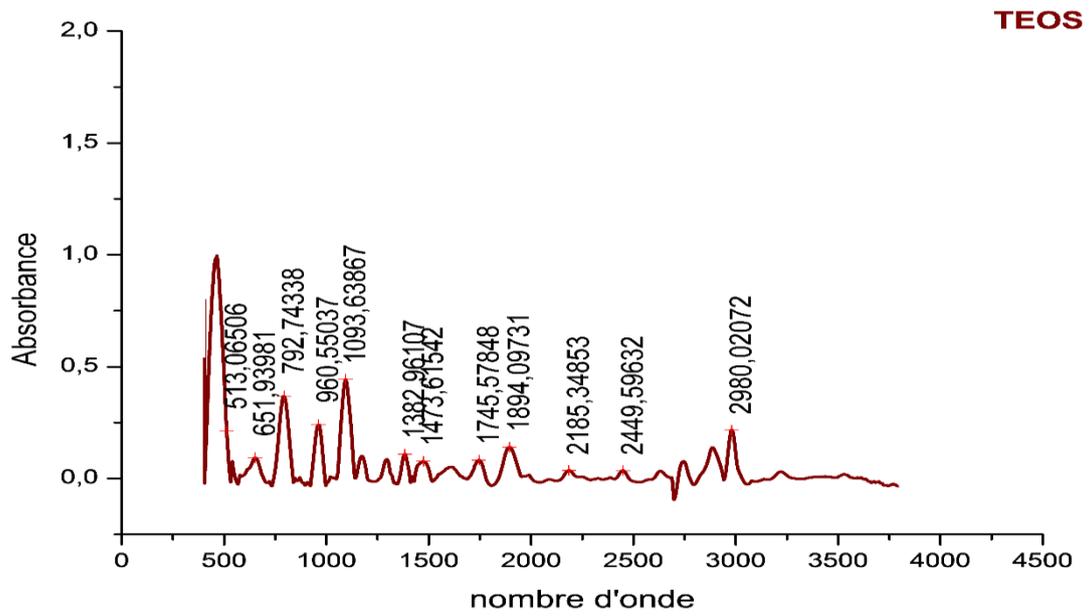
5. Diffractogramme X du récupéré après lavage (R3) de la formulation



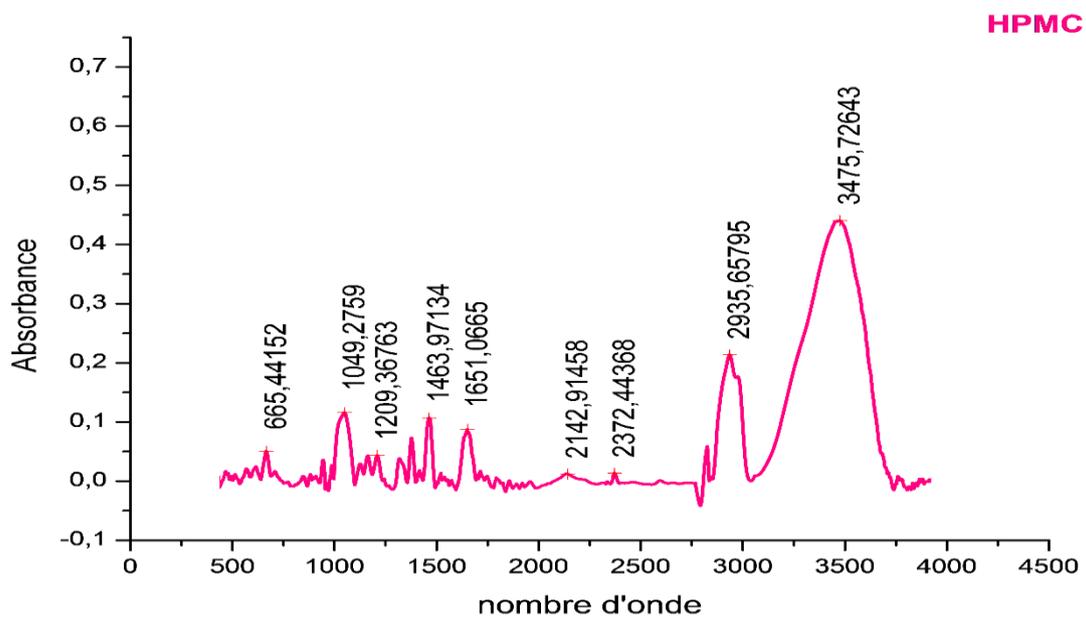
### 1. Analyse par UV des formulations à 2.5% d'HPMC



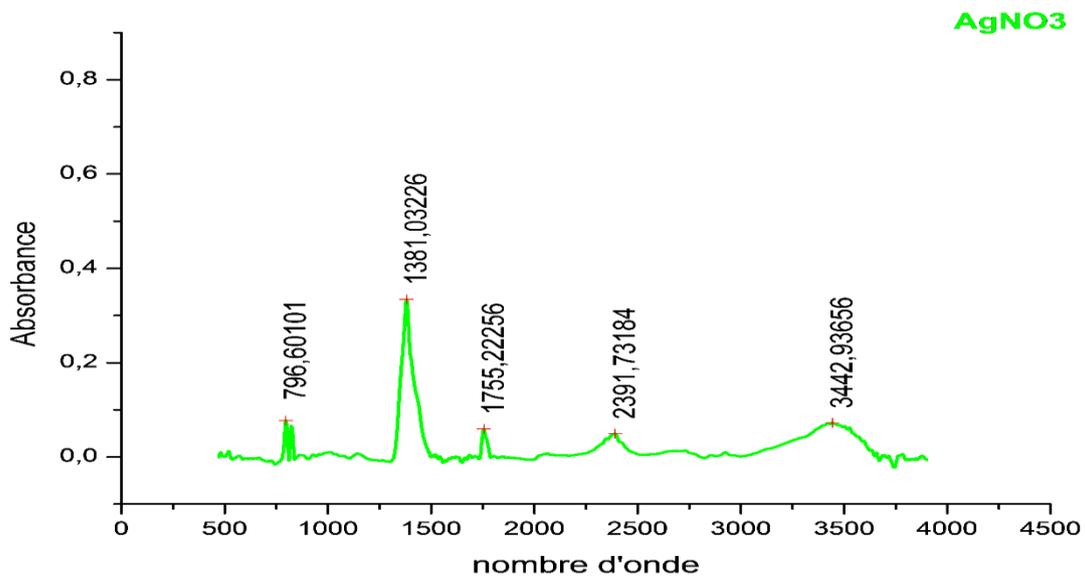
### 2. Analyse par UV des formulations à 5% d'HPMC



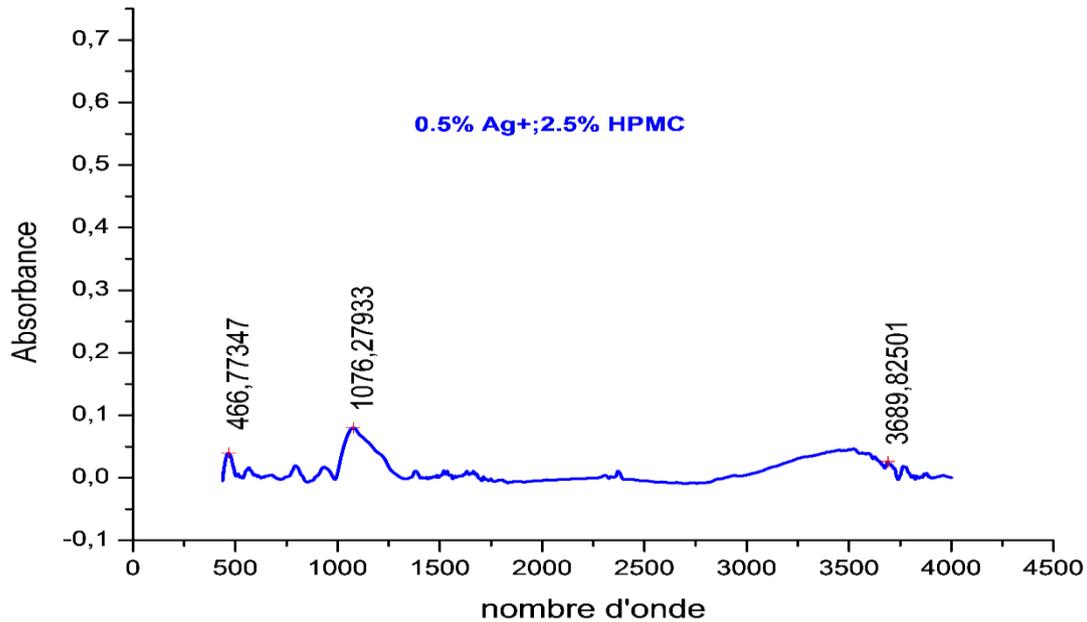
1. Spectre IR du TEOS



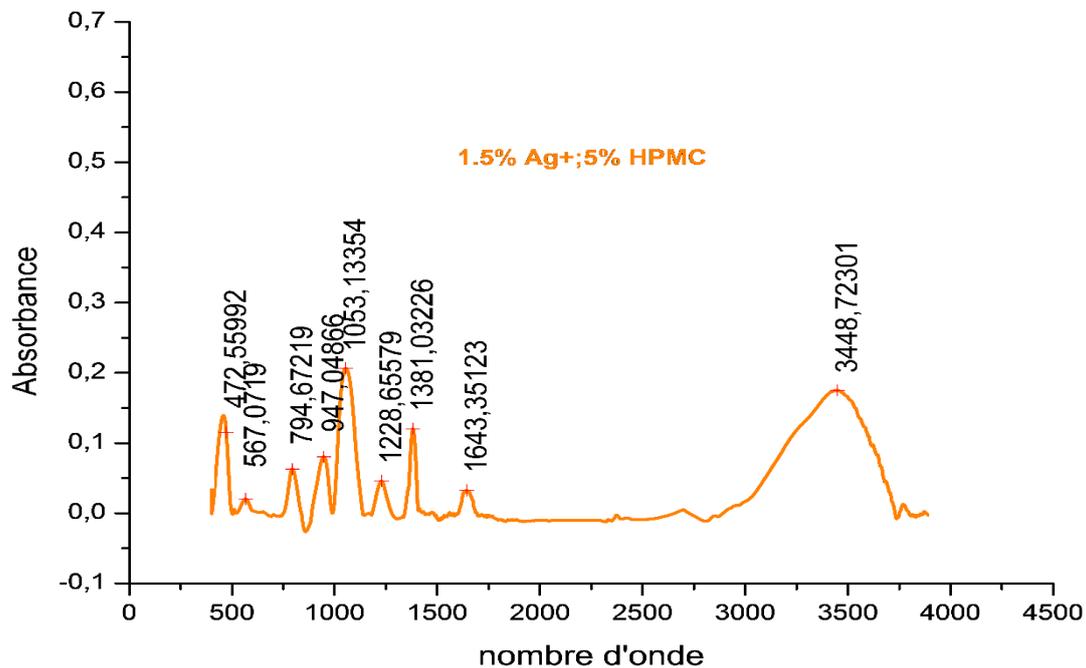
I2. Spectre IR de HPMC



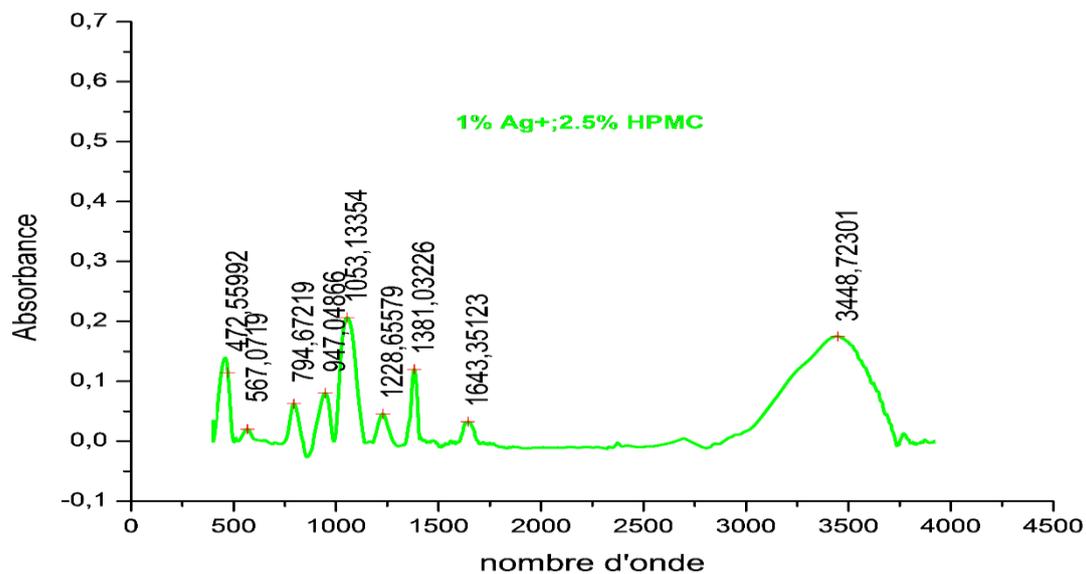
### 3. Spectre IR de AgNO<sub>3</sub>



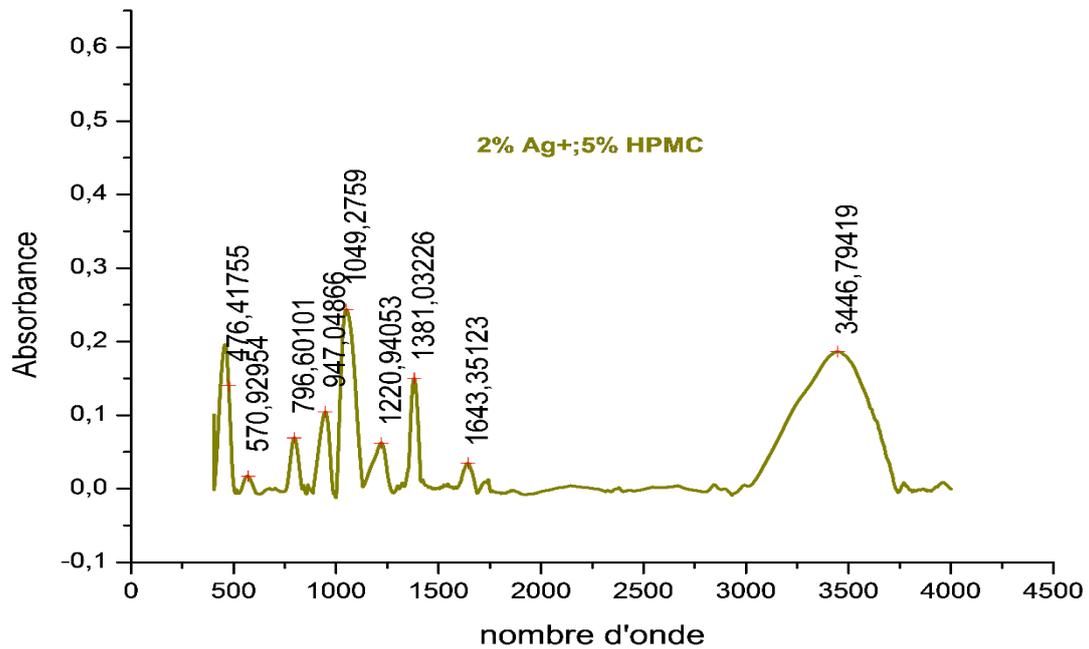
### 4. Spectre IR du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC (0.5% Ag, 2.5% HPMC)



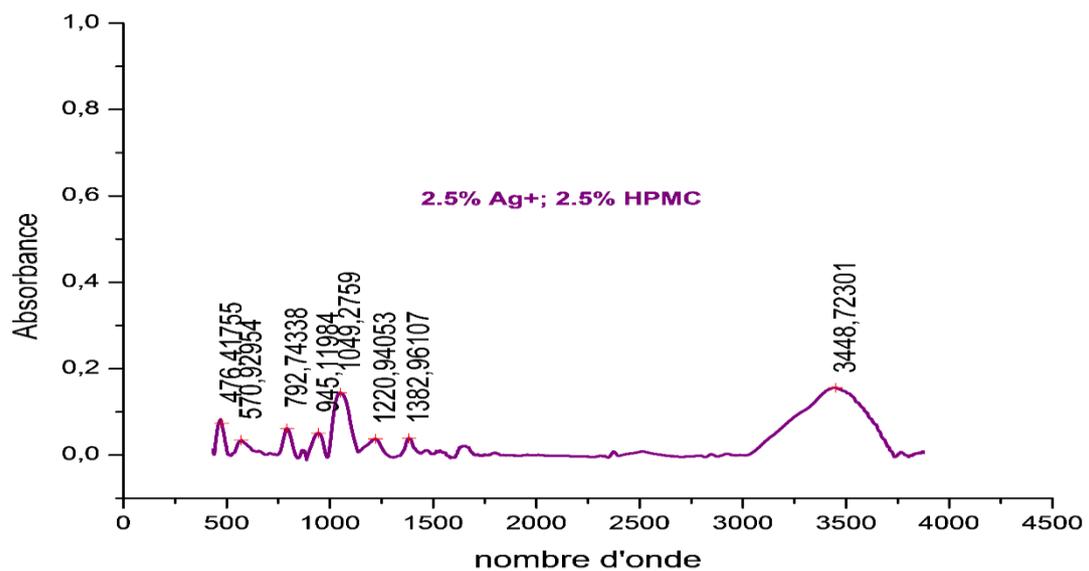
5. Spectre IR du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC (1.5% Ag, 2.5% HPMC)



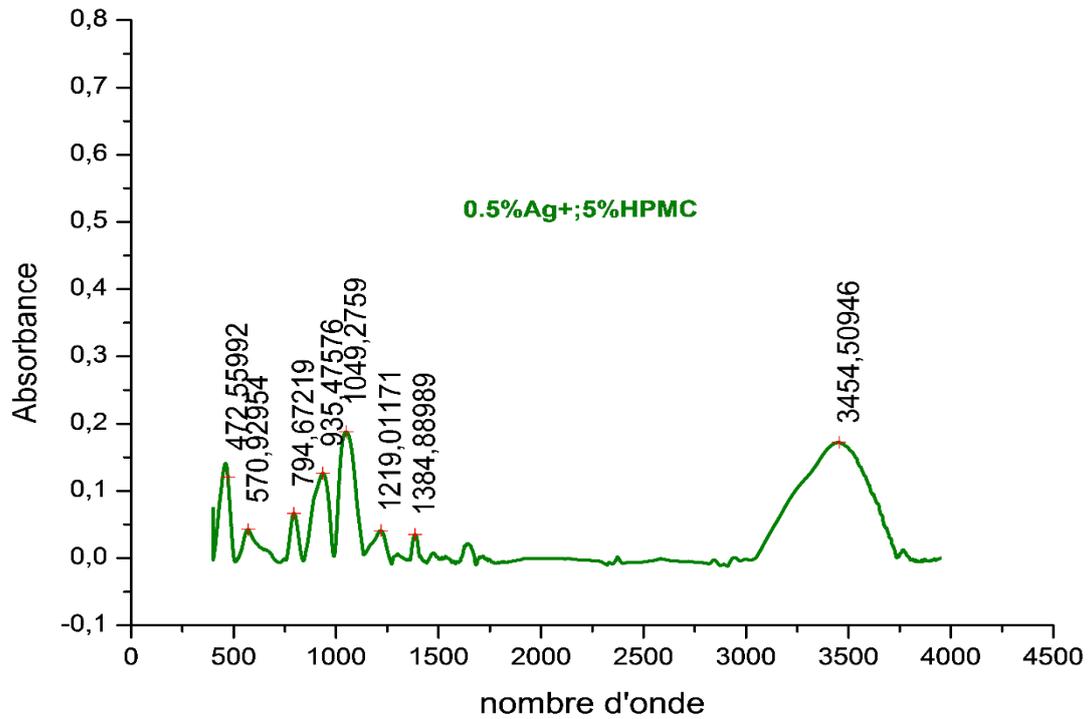
6. Spectre IR du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC (1% Ag, 2.5% HPMC)



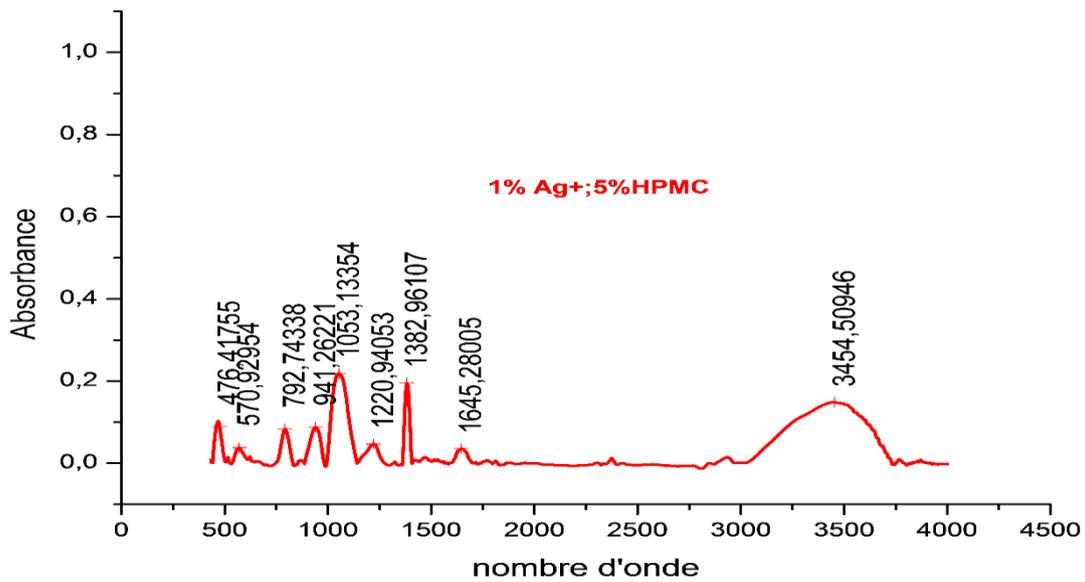
7. Spectre IR du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC (2% Ag, 2.5% HPMC)



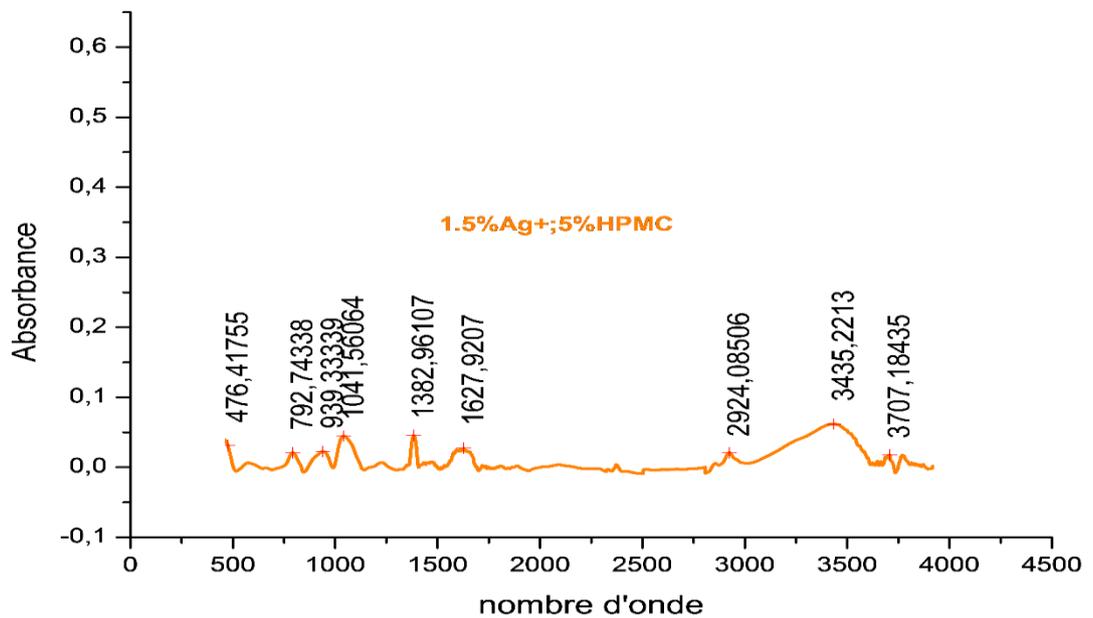
8. Spectre IR du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC (2.5% Ag, 2.5% HPMC)



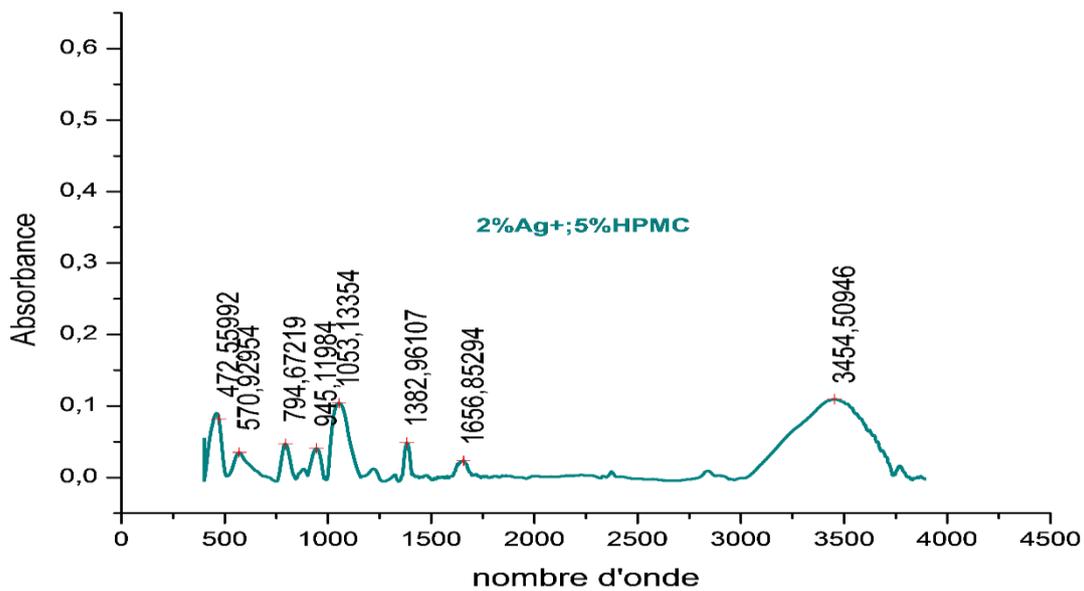
10. Spectre IR du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC (0.5% Ag, 5% HPMC)



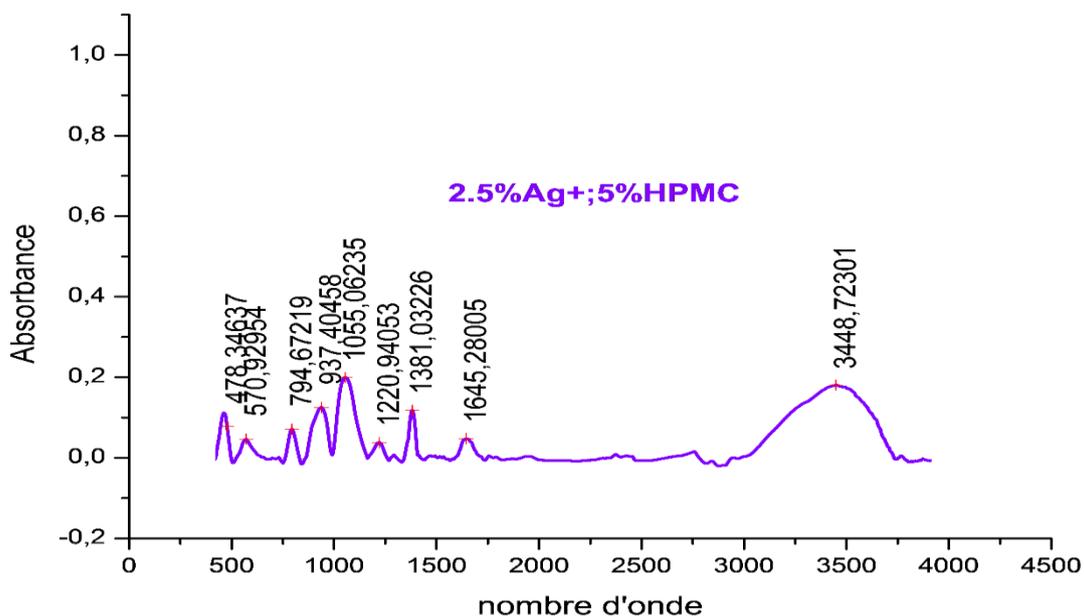
11. Spectre IR du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC (1% Ag, 5% HPMC)



12. Spectre IR du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC (1.5% Ag, 5% HPMC)



13. Spectre IR du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC (2% Ag, 5% HPMC)



14. Spectre IR du complexe TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC (2.5% Ag, 5% HPMC)

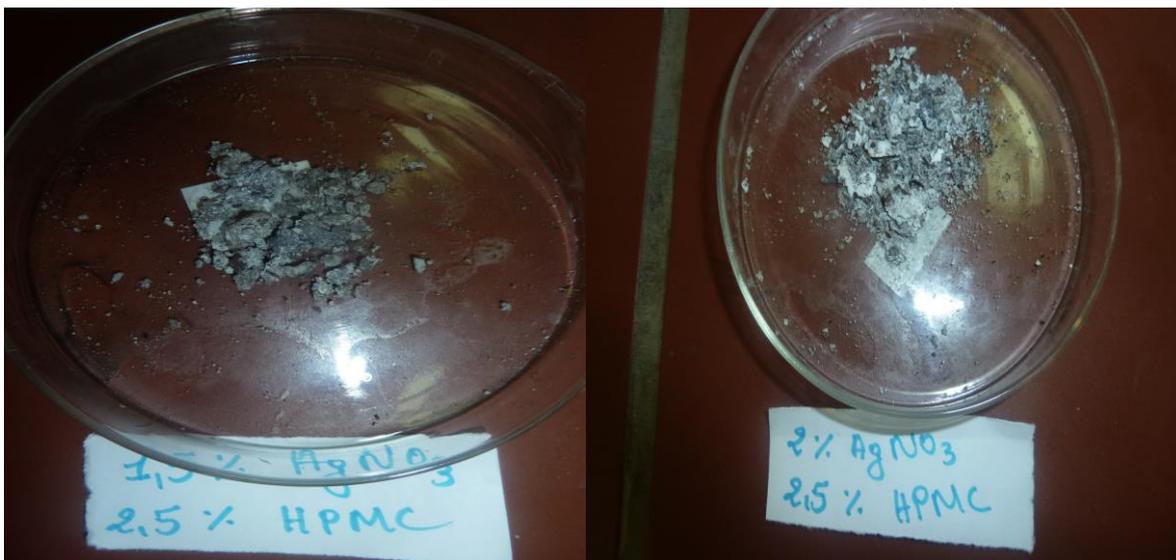
## 1. Les concentrations et absorbance par UV-Visible (qualitatif)

formulation	% Ag	%HPMC	F	$\Lambda$ (nm)	Abs
01	0.5	5	200	$\lambda_1= 303$ $\lambda_2= 232$	$A_1=0.070$ $A_2= 2.528$
02	1	5	200	$\lambda_1= 300$ $\lambda_2= 231$	$A_1= 0.071$ $A_2= 2.531$
03	1.5	5	200	$\lambda_1= 296$ $\lambda_2= 231$	$A_1= 0.060$ $A_2= 2.517$
04	2	5	200	$\lambda_1= 299$ $\lambda_2= 231$	$A_1=0.056$ $A_2=2.523$
05	2.5	5	200	$\lambda_1= 299$ $\lambda_2= 233$	$A_1=0.070$ $A_2=2.533$
06	0.5	2.5	200	$\lambda_1= 303$ $\lambda_2= 231$	$A_1=0.047$ $A_2=0.505$
07	1	2.5	200	$\lambda_1= 303$ $\lambda_2 = 230$	$A_1=0.046$ $A_2=2.511$
08	1.5	2.5	200	$\lambda_1=300$ $\lambda_2=229$	$A_1=0.061$ $A_2=2.558$
09	2	2.5	200	$\lambda_1= 296$ $\lambda_2= 232$	$A_1=0.079$ $A_2=2.533$
10	2.5	2.5	200	$\lambda_1= 303$ $\lambda_2= 233$	$A_1= 0.062$ $A_2=2.490$

1. Les résidus récupérés après séchage pour la formulation 5% HPMC



2. Les résidus récupérés après séchage pour la formulation 5% HPMC







1. Appareil infrarouge



2. appareil UV-Visible



3. balance magnétique



4. appareil de diffraction par rayon X (DRX)

## Résumé

L'objectif de notre travail est de proposer plusieurs formulations de nanoparticules du complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC), qui seraient adéquates et efficaces, à savoir leur activité antibactérienne liée au PA qui est l'argent, ajouté sous forme de sel de AgNO<sub>3</sub>. Ces formulations sont optimisées en fonction du pourcentage de Ag<sup>+</sup>, du taux de HPMC (polymère). La procédure suivie pour l'obtention du complexe organosilane, passe par trois étapes essentielles : l'hydrolyse de l'acide de TEOS pour aboutir au sol-gel ; la préparation de du complexe (TEOS-Ag<sup>+</sup>) ; l'encapsulation par HPMC du complexe en formant des nanoparticules.

Conformément à un test microbiologique sur l'Escherichia coli, nous avons obtenu une activité antibactérienne des différentes formulations, avec des zones d'inhibition qui varient en fonction de la teneur de Ag dans les Nps et du taux de HPMC, après 24H d'incubation à 37°C. Le diamètre optimal de 34mm a été obtenu pour la meilleure formulation avec 2% de Ag et 2.5% de HPMC.

La détermination de la concentration et de la teneur de Ag dans les nanoparticules de (TEOS-Ag<sup>+</sup>-HPMC) a été faite par spectrophotométrie UV.

**Mots clés :** Antibactérien- Nitrate d'argent- TEOS- Sol gel- HPMC- Complexe- Nanoparticules - Escherichia coli